Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. H.Franke

Die Einwirkung des Kallikreins auf verschiedene Stoffwechsel- und Gerinnungsparameter

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Horst Rusche

aus Erlangen

Würzburg, den 7. Mai 1981

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Würzburg

Direktor: Prof. Dr. med. H.Franke

Die Einwirkung des Kallikreins auf verschiedene Stoffwechsel- und Gerinnungsparameter

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Horst Rusche

aus Erlangen

Würzburg, den 7. Mai 1981

Referent: Prof.Dr.med. W.Gross
Korreferent: Prof.Dr.med. H.Franke
Dekan: Prof.Dr.med. K.-H.Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 30.6.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meiner lieben Frau

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodik	3
A. Versuchsablauf	3
B. Stoffwechseluntersuchungen	5
C. Gerinnungsphysiologische Untersuchungen	13
D. Statistische Auswertung	18
III. Ergebnisse	20
IV. Diskussion	45
V. Zusammenfassung	56
VI. Literaturverzeichnis	58

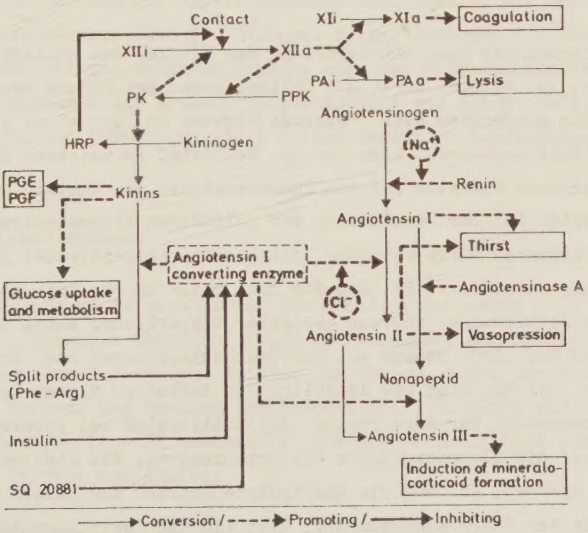
Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0053

I. Einleitung

1925 gelang dem Münchener Chirurgen E.K. Frey im Tierversuch der Nachweis, daß eine körpereigene Substanz - sie erhielt die Bezeichnung Kallikrein - in der Lage ist, den Blutdruck zu senken.
1932 beobachteten Frey, Kraut und Werle bei Diabetikern eine erhebliche Herabsetzung des Blutzuckerspiegels, wenn sie ihnen Kallikrein intramuskulär injiziert hatten. Diese Entdeckung gab den Anstoß zu zahlreichen Nachprüfungen, die jedoch zu widersprüchlichen Ergebnissen führten.

1968 begannen neue Untersuchungen. Ihre Ergebnisse zeigten enge Wechselbeziehungen zwischen dem Kallikrein-Kinin-System, dem Renin-Angiotensin-System und den Prostaglandinen. Die Kallikreine oder Kininogenasen, die vor allem in Pankreas, Niere, Lunge, Darm und Hoden hohe Aktivitäten aufweisen, können daher als Regelgröße bei vielen biologischen Prozessen im Körper verstanden werden.
1977 fasste Haberland die bisher bekannten pathophysiologischen Zusammenhänge in folgendem Schaubild zusammen:



Die Kininogene sind die natürlichen Substrate der Kallikreine. Aus ihnen werden die eigentlichen Effektoren des Kallikrein-Kinin-Systems - die Kinine - abgespalten.

Praktisch jede Protease mit trypsinähnlicher Substratspezifität besitzt Kininogenase-Aktivität. Typisch für die Kallikreine ist ihre hohe Selektivität für die Kininogenspaltung. Wir unterscheiden zwischen den Organkallikreinen und dem Plasmakallikrein. Das bevorzugte Substrat der Organkallikreine ist das niedermolekulare Kininogen. Das Plasmakallikrein spielt eine bedeutende Rolle im Blutgerinnungs-Fibrinolyse-System. Sein biologischer Partner ist neben dem hochmolekularem Kininogen der Hagemanfaktor (Faktor XII).

Die Organkallikreine sind im strömenden Blut nachweisbar. Damit ist ihre Wirksamkeit auf alle Zellsysteme von vornherein gegeben.
Die Kinine haben eine Halbwertszeit im Plasma von nur etwa 45 Sekunden. Hierfür sind die Kininasen verantwortlich. Es handelt sich dabei um kininabbauende Enzyme, denen gleichzeitig zusätzliche biologische Aufgaben obliegen.
Die Organkallikreine werden im menschlichen Plasma nur in geringem Ausmaß und sehr langsam durch α_1-Antitrypsin gehemmt. Man kann sich daher vorstellen, durch eine Erhöhung des Plasmaspiegels von Kallikrein die Wirkungen der Kinine zu verstärken und zu verdeutlichen.

1973 untersuchten Meng und Haberland den Einfluß des Kallikreins auf den Transport von Glukose durch die Zellmembranen der Mukosa des Rattendünndarms. Sie entdeckten eine fördernde Wirkung in Form einer glockenförmigen Dosiswirkungskurve. Dies gab nun den Anlaß zu weiteren Untersuchungen. Es fanden sich Hinweise auf ein Zusammenwirken von Insulin und Kallikrein-Kinin-System bei der Regulierung der zellulären Glukoseextraktion. Bei diesen Versuchen wurde entweder Kallikrein intraperitoneal gespritzt oder Bradykinin infundiert. Es handelte sich teils um Perfusionsexperimente, teils um Bestimmungen während gezielter körperlicher Ausnahmesituationen. Gross und Burchardt gelang es, Stoffwechselwirkungen nach oraler Medikation zu zeigen. Dies gab letztlich den Anstoß zu dieser Arbeit, nämlich der Untersuchung der Auswirkungen des Kallikreins bei peroraler Applikation auf die Glukoseaufnahme der Erythrozyten, die Stoffwechselprodukte Laktat, Pyruvat, ATP und die Elektrolyte Natrium und Kalium unter der Kontrolle von Säurebasenhaushalt, Blutbild und Gerinnungsstatus.

II. Methodik

A Versuchsablauf

1. Versuchspersonen

Für diese Untersuchungen stellten sich zwanzig normalgewichtige junge Männer zur Verfügung. Sie waren 20 bis 28 Jahre alt. Ihr systolischer Blutdruckwert lag nicht über 140 mmHg, der diastolische nicht über 95 mmHg. Während des Versuchs wurden Blutbild und Blutsenkungsgeschwindigkeit kontrolliert. Vor Versuchsbeginn wurden sie mittels der Serumautoanalyzerprogramme SMA 6 und 12 der Medizinischen Universitätspoliklinik, sowie der Bestimmung der Lebertransaminasen auf ihre Stoffwechselnormalität hin überprüft.

2. Padutin 100

Die Probanden nahmen zwei Wochen lang täglich 3 x 2 Tabletten Padutin 100 ein. Das entspricht einer Tagesdosis von 600 KE (Kallikreineinheiten). Eine Tablette Padutin 100 enthält Kallidinogenase (Kallikrein) mit Begleitstoffen aus Schweinepankreas 0.075 - 16.5 mg. Dieses Pankreas - ß Kallikrein (A und B Gemisch) des Schweins besteht aus zwei Polypeptidketten mit insgesamt 232 Aminosäuren und einem Kohlhydratgehalt von 5,6 % (Kallikrein A, Molekulargewicht bei 26800) bzw. 11,5 % (Kallikrein B, Molekulargewicht bei 28600).

3. Durchgeführte Bestimmungen

Vor Beginn (t = 0) und am letzten Morgen der Kallikreineinnahme (t = 14) bestimmte ich aus ungestautem Venenblut folgende Parameter: den Hämatokrit, die Konzentrationen der Elektrolyte Natrium und Kalium, sowie den Gehalt an Glukose, Laktat, Pyruvat und Adenosintriphosphat (ATP) in Serum und Vollblut. Nach sieben Tagen (t = 7) untersuchte ich die Zwischenwerte für Hämatokrit, Glukose, Pyruvat und Laktat.

Zu den Zeitpunkten t_o und t_{14} erstellte ich einen Gerinnungsstatus folgenden Umfangs: Thrombozytenzahl, Thrombelastogramm (TEG), Euglobulinlysezeit, Quickwert, Partielle Thromboplastinzeit (PTT), Thrombinzeit und die plasmatischen Gerinnungsfaktoren I, II, V, X und XII, und Plättchen-Aggregationstest III nach Breddin.
Für t_o, t_7 und t_{14} ermittelte ich aus Kapillarblut den Säurebasenhaushalt. Alle Messungen wurden doppelt ausgeführt. Die Mittelwerte wurden zu weiteren Berechnungen herangezogen. Die Bestimmungen von Glukose, Pyruvat, Laktat und ATP erfolgten mit dem Eppendorf-Photometer, der mit einem Registrierzusatz versehen war.

4. Blutentnahme

Die Versuchspersonen kamen nach einem "kleinen" aber fettfreiem Frühstück zwischen 6.30 Uhr und 8.00 Uhr zur Blutentnahme. Aus einer ungestauten Cubitalvene entnahm ich mittels einer 1,1 Kanüle ca. 70 ml (t_o), 30 ml (t_7) bzw. 50 ml (t_{14}) Blut. Das für die gerinnungsphysiologischen Untersuchungen bestimmte Blut zog ich dabei in eine bereits mit 2 ml 0,1 M Natrium - Citratlösung versehene 20er Spritze auf.
Für UV-photometrische Bestimmungen vorgesehenes Blut wurde direkt nach der Entnahme enteiweißt.

B Stoffwechseluntersuchungen

1. Hämatokrit

Frisch entnommenes Venenblut wurde in je zwei heparinisierte Mikrohämatokritkapillaren aufgezogen und das blutfreie Ende der Glaskapillaren mit Kitt verschlossen. Nach Zentrifugation (10 Minuten bei 5000 U/min) in der Mikrohämatokritzentrifuge las ich das Ergebnis mit Hilfe des HAWKSLEY - Readers ab.

2. Bestimmung der Elektrolyte Natrium und Kalium in Serum und Hämolysat

Die Analyse dieser beiden Jonen erfolgte im Flammenphotometer "Eppendorf". Die Konzentrationen der beiden Metalle in der Meßflüssigkeit wurde durch photometrische Messung der nach Verdampfen des jeweiligen Metalles in der Flamme entstehenden Intensität der Emission bei der entsprechenden Wellenlänge im Vergleich mit den Eichlösungen bestimmt.

Die Meßflüssigkeiten stellte ich wie folgt her:

0,5 ml Serum wurden mit Aqua bidestillata auf 10 ml aufgefüllt. So erhielt ich eine Verdünnung von 1 : 20 für die Bestimmung des Serumkaliums. 1 ml dieses 1 : 20 verdünnten Serums wurde mit weiteren 9 ml Aqua bidestillata versetzt, um eine Verdünnung von 1 : 200 für die Bestimmung des Serumnatriumwerts zu erhalten.

Für die Vollblutbestimmung beider Elektrolyte füllte ich 0,5 ml Blut im Erlenmeyerkolben mit Aqua bidestillata auf 100 ml auf (Verdünnung 1 : 200). Die Erythrozyten wurden dadurch hämolysiert.

Nach Einstellen der benötigten Wellenlänge und dem Abgleichen des Photometers mit Hilfe von Leerwert (Aqua bidestillata) und jeweiliger Eichlösung konnte ich nun unter Berücksichtigung der Verdünnung direkt die Meßwerte meiner Testlösungen in mmol/l auf der Geräteskala ablesen.

3. Glukosebestimmung in Serum, Vollblut und Erythrozyten

3.1 Prinzip (in Anlehnung an F.H. Schmidt)

Glukose wird in der durch Hexokinase katalysierten enzymatischen Reaktion durch ATP zu G-6-P phosphoryliert.

$$\text{Glukose} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{G-6-P} + \text{ADP}$$

Durch das Enzym Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase wird G-6-P in Gegenwart von NADP in Glukonat-6-P übergeführt.

$$\text{G-6-P} + \text{NADP}^{+} \rightleftharpoons \text{Glukonat -6-P} + \text{NADPH} + \text{H}^{+}$$

Die aus NADP entstehende NADPH-Menge ist äquivalent der G-6-P- bzw. Glukose-Menge. NADPH ist Meßgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei Hg 366 nm bestimmt.

3.2 Bestimmungsansatz

Wellenlänge: Hg 366 nm; Glasküvette: 1 cm Schichtdicke
Temperatur: 20 - 25° C; Messung gegen Luft.

In eine 10 mm Küvette werden nacheinander pipettiert:

2,5 ml Puffer (Triäthanolaminpuffer: 0,3 ml/l; pH = 7,5
$Mg\,SO_4$: 4 mmol/l)
0,2 ml Überstand nach Enteiweißung (0,1 ml Serum bzw. Blut auf 1 ml eiskalte 0,33 N Perchlorsäure)
0,1 ml NADP (12 mmol/l)
0,1 ml ATP (15 mmol/l)

Es wird mit einem Plastikspatel mit dem Elektrorührer durchgemischt, dann die Extinktion (E_1) gemessen. Danach werden 0,02 ml einer Suspension aus Hexokinase (U ≧ 125 U/ml) und Glukose - 6 -phosphat-Dehydrogenase (U ≧ 125 U/ml) hinzugegeben. Es wird erneut gemischt und der Stillstand der Reaktion abgewartet. Ist dies nach ca. 10 min nicht geschehen, werden 3 - 5 weitere Ablesungen im Abstand von 2 min durchgeführt und die Extinktion (E_2) auf die Zeit der Zugabe der Enzym-Suspension extrapoliert.

- -

Aus der Extinktionsdifferenz $\Delta E = E_2 - E_1$ wird der Glukosegehalt von Blut ($\Delta E \times 45{,}3$) und Serum ($\Delta E \times 45{,}9$) in mmol/l berechnet.

3.3 Glukosehalt der Erythrozyten

Den Gehalt an Glukose in den Erythrozyten errechnete ich unter Zugrundelegung des Hämatokrits. Ich nahm folgende Formel zu Hilfe:

$$E_F = \left[E_B - E_S \left(1 - \frac{H}{100}\right) \right] \frac{100}{H} \text{ mmol/l}$$

dabei ist:

E_F = Gehalt der Erythrozyten an Ferment F in mmol/l
E_B = Gehalt des Vollblutes an Ferment F in mmol/l
E_S = Gehalt der Serums an Ferment F in mmol/l
H = Hämatokrit (Vol. % Erythrozyten im Vollblut)

4. Bestimmung des ATP in Serum und Vollblut

4.1 Prinzip (nach Th. Bücher)
ATP phosphoryliert in der von 3 - Phosphoglycerat-Kinase katalysierten Reaktion Glycerat-3-phosphat zu Glycerat-1,3-diphosphat.

(1) Glycerat-3-P + ATP $\rightleftharpoons$ Glycerat-1,3-P_2 + ADP

Das gebildete Glycerat-1,3 diphosphat wird in der von Glycerinaldehyd -3-phophat -Dehydrogenase katalysierten Reaktion durch NADH zu Glycerin-3-phophat und Phosphat reduktiv gespalten.

(2) Glycerat-1,3-P_2 + NADH + $H^+ \rightleftharpoons$ GAP + P_i + NAD^+

Glycerinaldehyd-3-phosphat wird von dem Enzyn Triosephosphat-Isomerase in Dihydroxyacetonphosphat übergeführt.

(3) GAP $\rightleftharpoons$ DAP

Dihydroxyacetonphosphat wird anschließend in der von Glycerinphosphat-Dehydrogenase katalysierten Reaktion durch NADH zu Glycerin-1-phosphat reduziert.

(4) DAP + NADH + $H^+ \rightleftharpoons$ Glycerin-1-P + NAD^+

Das Gleichgewicht der Reaktion (1) liegt auf der linken Seite. Durch Glycerat -3-P-Überschuß und durch Abfangen des gebildeten Glycerat-1,3-P_2 in Reaktion (2), deren Gleichgewicht auf der rechten Seite liegt, kann ATP vollständig umgesetzt werden.
Die in der Indikatorreaktion (2) verbrauchte NADH-Menge ist äquivalent der Glycerat-1,3-P_2-Menge und damit der ATP-Konzentration. Durch Umwandlung des in Gleichung (2) gebildeten Glycerinaldehyd-3-phosphat und dessen Umsetzung mit NADH laut Gleichung (4) erhält man die doppelte Umsatzrate. NADH ist Meßgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei Hg366 nm bestimmt.

4.2 Bestimmungsansatz

Wellenlänge: Hg 366 nm; Glasküvette: 1 cm Schichtdecke;
Temperatur: 20 - 25°C; Messung gegen Luft.
In eine 10 mm Küvette werden nacheinander pipettiert:

2 ml Puffer (Triäthanolpuffer 0,5 mol/l, pH = 7,6;
$MgSO_4$ 4 mmol/l; Glycerat-3-phosphat 6 mmol/l)
0,2 ml NADH (2,5 mmol/l
0,2 ml Überstand nach Enteiweißung (4 ml eiskalte 0,6 N
Perchlorsäure auf 1 ml Blut bzw. Serum)

Es wird gemischt und die Extinktion E_1 gemessen. Dann werden 0,02 ml einer Suspension aus GAPDH/PGK/GDH/TIM (≙ 560 U/ml; ≙ 450 U/ml; ≙ 80 U/ml; ≙ 1000 U/ml) hinzugegeben und erneut gemischt. Nach Stillstand der Reaktion (ca. 10 min) wird die Extinktion E_2 abgelesen. Kommt die Reaktion nach 10 min nicht zum Stillstand, werden 3 - 5 weitere Messungen durchgeführt und die Extinktion E_2 auf die Zeit der Suspensionszugabe extrapoliert. Aus der Extinktionsdifferenz $\Delta E = E_1 - E_2$ wird der ATP-Gehalt von Blut und Serum mittels des Faktors 8627 in µmol/l errechnet. Der ATP-Gehalt der Erythrozyten wurde nach der in II B 3.3 angegebenen Formel errechnet.

5. Bestimmung des Laktats in Vollblut und Serum

5.1 Prinzip (nach H.I. Hohorst)
L-Laktat wird in der von Laktat-Dehydrogenase katalysierten enzymatischen Reaktion durch NAD zu Pyruvat oxidiert.

$$\text{L-Laktat} + NAD^+ \rightleftharpoons \text{Pyruvat} + NADH + H^+$$

Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weit auf der Seite von L-Laktat und NAD. Durch NAD-Überschuß, alkalisches Milieu und Abfangen des gebildeten Pyruvats mit Hydrazin kann das Gleichgewicht völlig auf die Seite von Pyruvat und NADH verschoben werden. Die während der Reaktion gebildete NADH-Menge ist äquivalent der L-Laktatmenge. NADH ist Meßgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei Hg 366 nm bestimmt.

5.2 Bestimmungsansatz
Wellenlänge Hg 366 nm; Glasküvette: 1 cm Schichtdecke;
Temperatur: 25°C; Messung gegen Luft.
In Reagenzgläser wurden pipettiert:

2 ml Puffer/Hydrazin (0,5 mol/l;pH 9,0;/0,4 mol/l)
0,2 ml Überstand nach Enteiweißung (1 ml eiskalte 0,6 N Perchlorsäure auf 0,5 ml Blut bzw. Serum)
0,2 ml NAD (27 mmol/l)
0,02 ml LDH (= 650 U/ml)

Zur Herstellung eines Leerwertes wurden statt 0,2 ml Überstand 0,2 ml 0,6 N Perchlorsäure in ein Reagenzglas pipettiert. Es wurde gemischt und die Reagenzgläser genau 1 Stunde bei 25° C im Wasserbad inkubiert. Dann wurde der Inhalt der Gläser in die Glasküvetten gegossen und die Extinktion der Probe (E_p) und die Extinktion des Leerwertes (E_L) gegen Luft gemessen. Aus der Extinktionsdifferenz $\Delta E = E_p - E_L$ wurde dann mit Hilfe des angegebenen Faktors 10,1 der Laktatgehalt im Blut in mmol/l errechnet. Dies gilt auch für die Berechnung der Laktatkonzentration im Serum.

6. Bestimmung des Pyruvats in Vollblut und Serum

6.1 Prinzip (nach Czok R. und W. Lamprecht)
Pyruvat wird in der von Laktat-Dehydrogenase katalysierten enzymatischen Reaktion durch NADH + H^+ zu L-Laktat reduziert.

$$\text{Pyruvat} + \text{NADH} + H^+ \overset{\text{LDH}}{\rightleftharpoons} \text{L-Laktat} + \text{NAD}^+$$

Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weit auf der rechten Seite. Bei Überschuß an NADH + H^+ läuft die Reaktion schnell ab und überführt Pyruvat quantitativ in L-Laktat. Gemessen wird die Abnahme der Extinktion hervorgerufen durch den Verbrauch des NADH + H^+.

6.2 Bestimmungsansatz
Wellenlänge: Hg 366 nm; Glasküvette: 1 cm Schichtdicke;
Inkubationstemperatur: 25°C; Messung gegen Luft.
In ein Reagenzglas werden pipettiert:

5 ml Überstand nach Enteiweißung (5 ml eiskalte 1,0 N Perchlorsäure auf 5 ml Blut bzw. Serum)
2 ml Puffer (Trikaliumphosphat 0,7 mol/l)

Es wurde gemischt, ca. 15 min im Eisbad stehen gelassen und dann durch ein kleines Faltenfilter filtriert.
Zur Bestimmung der Extinktion E_1 wurden dann 2 ml Filtrat (25°C) und 0,2 ml NADH (2,5 mmol/l) in eine 10 mm Küvette pipettiert und mit einem Plastikspatel gemischt.
Zum Erhalt der Extinktion E_2 mischte ich nun 0,02 ml LDH - Suspension (≥ 900 U/ml) ein und wartete den Stillstand der Reaktion ab. War dies nach ca. 5 min nicht geschehen, führte ich 3 - 5 weitere Ablesungen im Abstand von je 2 min durch und extrapolierte die Extinktion E_2 auf die Zeit der Zugabe der LDH-Suspension. Die Konzentration des Pyruvats im Blut in µmol/l errechnete ich durch die Multiplikation von $\Delta E = E_1 - E_2$ mit dem vorgegebenen Faktor 905. Dies gilt auch für die Berechnung der Pyruvatkonzentration im Serum.

7. Bestimmung von aktuellem pH, aktuellem pCO_2, Pufferbasen, Basenüberschuß, aktuellem Bikarbonat und Standardbikarbonat.

7.1 Mikro-Astrup-Methode

Ich arbeitete nach der Mikro-Astrup-Methode mit dem Radiometer "Copenhagen" und dem Nomogramm nach Siggaard-Anderson. Die Astrup-Interpolationsmethode basiert auf der angenommenen Linearität zwischen pH-Wert und log pCO_2 in sauerstoffgesättigtem Blut. Unter Verwendung kleinster Mengen an Untersuchungsmaterial (20 - 50 µl) lassen sich alle Größen des Säurebasenhaushaltes anhand von drei Blut-pH-Messungen bestimmen.

7.2 Blutentnahme

In die durch kräftiges Reiben hyperämisierten Ohrläppchen stach ich mit einer Lanzette tief ein. Dann zog ich das so arterialisierte Kapillarblut in drei heparinisierte Glaskapillare auf.

7.3 pH-Messung

Die pH-Messung erfolgte gegen eine Kalomelelektrode. Zur Eichung der Mikro-Elektrodenkette verwandte ich zwei auf 37°C erwärmte Präzisionspuffer. Nach der Kalibierung füllte ich die Kapillarelektrode vollständig und blasenfrei mit der 37°C warmen Blutprobe dar.

7.4 Ermittlung des pCO_2

In der mittels Thermostat auf 37°C erwärmten Äquilibrierkammer werden der Inhalt (je ca. 50 µl) der beiden restlichen Glaskapillaren mit zwei Gasgemischen verschiedener CO_2-Konzentration durch 4 min langes Schütteln ins Gleichgewicht gebracht. Die Gasgemische enthielten etwa 4 % CO_2 und 96 % O_2, sowie etwa 8 % CO_2 und 92 % O_2. Nach dem Äquilibrieren ermittelte ich den pH-Wert beider Blutproben wie unter 7.3 angegeben. Diese beiden Meßpunkte trug ich dann unter Berücksichtigung des jeweils herrschenden Luftdrucks in das pH/logpCO_2 Nomogramm ein und verband sie durch eine Gerade miteinander. Alle weiteren Meßgrößen (aktuelles pCO_2, Pufferbasen, Basenüberschuß, aktuelles Bikarbonat, Standardbikarbonat) las ich aus dem Nomogramm ab. Das Gesamt-CO_2 wurde berechnet.

C Gerinnungsphysiologische Untersuchungen

Sämtliche Gerinnungsparameter wurden aus Zitratblut (Verd. 1 : 10) nach Abzentrifugieren des Plasmas (10 min bei 3000 U/min) bzw. nach Spontansedimentation gewonnen. Die plasmatischen Gerinnungsparameter bestimmte ich aus Plasma, das aus labortechnischen Gründen für 6 Wochen bei etwa - 30°C tiefgefroren wurde. Zwischen der Blutentnahme und dem Einfrieren vergingen in keinem Fall mehr als 25 Minuten. Das Thrombelastogramm (TEG) wurde sofort registriert. Mit Ausnahme von TEG und Euglobulinlyse und dem Plättchen-Aggregationstest III wurden stets Doppelbestimmungen durchgeführt und die Mittelwerte zu den weiteren Berechnungen herangezogen. Für alle Untersuchungen wurde nur dreifach frisch silikonisiertes Glasmaterial verwandt.

1. Thrombozytenzahl
Sie wurde im Thrombozyten-Counter der Firma Coulter ermittelt.

2. Thrombelastographie
Anwendung fand die Originalmethode aus Vollblut nach **Hartert**. 0,6 ml Zitratblut werden mit 0,4 ml 0,025 M $CaCl_2$-Lösung in einem silikonisierten Zentrifugenröhrchen rekalzifiziert und 0,35 ml in eine vorgewärmte Küvette des "Hellige-Thrombelastographen" gefüllt. Dann wird ein beweglich aufgehängter Stahlstempel von oben in die gefüllte Küvette gesenkt und die Blutoberfläche zum Schutz vor Verdunstung mit Paraffinöl überschichtet.
Im nicht geronnenen Blut wird der Stempel durch die Bewegungen der Küvette nicht ausgelenkt. Sobald sich jedoch ein Gerinsel bildet, nimmt dieses den Stempel bei der Horizontalbewegung mit. Die Auslenkung wird über ein Spiegelsystem sichtbar gemacht und auf einem langsam laufenden Fotopapier festgehalten.
Folgende Werte werden gemessen:
Reaktionszeit r = Zeit vom Beginn der Registierung bis zu dem Punkt, an dem die Amplitude eine Höhe von 1 mm erreicht. Das ist die meßbare gerade Linie plus der Einfüllzeit von 1 min.

Gerinnselbildungszeit k = die Zeit vom Ende der Reaktionszeit bis zum Ausschlag 20 mm.

Maximale Amplitude m_a = der Maximalausschlag in mm, aus dem die Thrombuselastizität errechnet werden kann (100 a/100 - a).

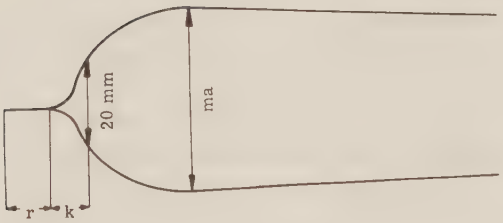


Abb. 1 : Normales Thrombelastogramm

3. Einphasentest nach Quick (Thromboplastinzeitbestimmung)
0,1 ml Zitratplasma werden nach Inkubation von 30 sek bei 37°C mit 0,2 ml Calzium-Thromboplastin (Behring-Werke) versetzt. Der Gerinnungseintritt wird mit der Häkelmethode bestimmt und die Gerinnungszeit in sek notiert.

4. Partielle Thromboplatinzeit PTT
0,2 ml Zitratplasma werden mit 0,2 ml PTT-Reagens (Behring-Werke), das den humanen Thrombozytenfaktor 3 und Kaolin als Oberflächenaktivator enthält, zusammengegeben. Nach zwei min Inkubation bei 37°C werden 0,2 ml $CaCl_2$-Lösung eingeblasen und der Gerinnungseintritt bestimmt.

5. Plasma - Thrombinzeit

0,1 ml Zitratplasma werden mit 0,1 ml Diäthylbarbiturat-Acetat-Puffer-Lösung 30 sek bei 37°C inkubiert. Dann werden 0,1 ml Test-Thrombinlösung (6E/ml) beigegeben und die Zeit bis zum Gerinnungseintritt gestoppt.

6. Faktorenanalyse

6.1 Fibrinogen

Es wird die Methode nach Clauss unter Benutzung des Fibrinogen-Testbestecks der Behring-Werke verwandt.

0,2 ml mit Barbitalpuffer auf 1 : 10 verdünntes Zitratplasma wird 30 sek bei 37°C inkubiert, dann mit 0,2 ml Fibrinogenreagenz (= Thrombinlösung) versetzt, und der Gerinnungseintritt bestimmt. Dieser hängt bei dem gegebenen Thrombinüberschuß weitgehendst vom Fibrinogengehalt der Blutprobe ab.

6.2 Die Faktoren II und V

Sie werden nach dem Prinzip des Einphasentests nach Quick unter Zugabe artefizieller Mangelplasmen (Restaktivität ≤ 1 %) bestimmt. Mit Diäthylbarbiturat-Acetat-Pufferlösung auf 1 : 20 verdünntes Probandenplasma wird mit 0,1 ml Mangelplasma 30 sek lang bei 37°C inkubiert. Dann werden 0,2 ml der auf 37°C erwärmten Thromboplastinlösung zugegeben und die Zeit bis zum Auftreten erster Fibringerinnsel gestoppt.

6.3 Faktor X

Er wird nach demselben Prinzip wie die Faktoren II und V, aber mit 0,1 ml Russel-Viperngift statt Thrombokinase und Bestimmung des Gerinnungseintritts unter Zugabe von 0,1 ml 0,025 M $CaCl_2$-Lösung bestimmt.

6.4 Faktor XII

Der Hagemanfaktor wird nach dem Prinzip der Partiellen Thromboplastinzeit PTT mit einem natürlichen Mangelplasma der Firma DADE bestimmt. Dazu werden 0,1 ml Faktor XII Mangelplasma, 0,1 ml mit Owrens Veronalpuffer au 1 : 10 verdünntes Probandenplasma und 0,1 ml Actin TM (aktiviertes Cephaloplastin) gemeinsam genau 2 min inkubiert und dann durch 0,1 ml

vorgewärmte $CaCl_2$-Lösung zum Gerinnen gebracht.

7. Euglobulinlysezeit

7.1 Prinzip

Durch Ansäuern von verdünntem Zitratplasma wird die Euglobulinfraktion, die das Fibrinogen und fast alle Fibrinolysefaktoren enthält, ausgefällt, wobei die Fibrinolyseinhibitoren im albuminhaltigen Überstand zurückbleiben. Dann bestimmt man die Lysezeit der zuvor in Puffer gelösten und durch $CaCl_2$-Thrombinlösung zur Gerinnung gebrachten Fraktion.

7.2 Durchführung

0,5 ml Probanden-Zitratplasma
7,5 ml Aquatridestillata
0,13 ml 1 % Essigsäure

werden in ein Zentrifugenröhrchen gegeben (pH = 5,2) und 30 min im Kühlschrank bei 4° stehen gelassen.
Daraufhin wird das Präzipitat 5 min bei 1500 U/min abzentrifugiert. Das überstehende Zentrifugat wird abgegossen, Flüssigkeitsreste werden mit Filterpapierstreifen aus dem Glas entfernt. Dann wird das Präzipitat in 0,9 ml Diäthylbarbituratpuffer pH 7,4 gelöst. Mit 0,1 ml Thrombinlösung - aus 0,125 ml des in 10 ml Glycerin gelösten Topostatin-Roche-Pulvers (3000 NIH) in 0,875 ml Aqua tridestillata angesetzt - wird das Gerinnsel gebildet. Dieses wird alle 10 min bis zum Eintritt der Lyse, jedoch nicht länger als 6 Stunden beobachtet.

8. Plättchenaggregationstest III (nach Breddin)

8.1 Gewinnung von plättchenreichem Plasma (PRP)
Das Zitratblut wird eine Stunde nach der Blutentnahme 1 min lang mit 100 G bei Zimmertemperatur zentrifugiert. Der Überstand wird als plättchenreiches Plasma (PRP) in ein neues Kunststoffröhrchen pipettiert. Die Verarbeitung erfolgte in keinem Fall später als 2 Stunden nach der Blutentnahme.

8.2 Prinzip
Eine kleine Menge plättchenreichen Plasmas rotiert direkt im Strahlengang eines Photometers in einer scheibenförmigen Küvette bei 37°C. Änderungen der optischen Dichte durch Aggregatbildung werden fortlaufend mittels Schreiber registriert. Entscheidend für die Auslösung der Aggregation ist der während der Rotation erfolgende Anstieg des Plasma-pH durch Austritt von CO_2.

8.3 Ausführung
Die Scheibenküvette wird mit 0,6 ml PRP gefüllt und in die vortemperierte Rotationstrommel des Aggregometers gesteckt. Einstellung des Photometers auf eine Transmission von 10 %. Nach Einschalten des Rotationsmotors wird der Aggregationsvorgang mittels angeschlossenem Kompensationsschreiber kontinuierlich aufgezeichnet.

8.4 Auswertung
Ich erfasste folgende Parameter:
Winkel α_1, gebildet aus der Waagerechten und der Tangente zur beim Start der Rotation relativ flach verlaufenden Transmissionskurve bis zum Beginn der maximalen Aggregation. Winkel α_1 entspricht der "primären Aggregation".
Winkel α_2, gebildet aus der Waagerechten und der Tangente zum steilsten Teil des Kurvenabfalls als Maß für die maximale Aggressionsgeschwindigkeit. Je größer der Winkel α_2, um so größer ist die maximale Aggregationsgeschwindigkeit.

D Statistische Qualitätskontrolle und Auswertung

Die statistische Qualitätskontrolle umfaßt die Präzisionskontrolle und die Richtigkeitskontrolle.
Eine Qualitätskontrolle wurde für die Parameter Glukose, Laktat, Einphasentest nach Quick, Partielle Plasmathrombinzeit, Plasmathrombinzeit sowie für die plasmatischen Gerinnungsfaktoren I, II, V, X und XII durchgeführt.

1.1 Die Präzisionskontrolle dient zur Erfassung der zufälligen Fehler. Es wird die Streuung der Einzelwerte um die Mittelwerte beurteilt. Es werden in einer 20-tägigen Vorperiode für die zu kontrollierenden Parameter Analysen an Hand von Standard-Human-Plasma durchgeführt. Die Kontrollgrenzen werden aus dem Mittelwert und der Standardabweichung der Analysenergebnisse während der Vorperiode berechnet.

$$\bar{x} = \frac{s_{xi}}{n} \quad ; \qquad s = \frac{s\,(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

x_i = Einzelwerte (x_1, x_2, x_3 ... x_n)

Der Variationskoeffizient gibt an, wieviel Prozent des Mittelwertes $\bar{x}$ die Standardabweichung s beträgt.

$$VK = \frac{s \times 100}{\bar{x}} \quad \%$$

Die obere Kontrollgrenze beträgt $\bar{x} + 3\,s$, die untere $\bar{x} - 3\,s$.
Die Methode ist "außer Kontrolle" wenn:
1. Ein Wert außerhalb des Messbereiches liegt.
2. Sieben aufeinanderfolgende Werte auf einer Seite des Mittelwertes liegen.
3. Sieben aufeinanderfolgende Werte eine ansteigende Tendenz aufweisen.
4. Sieben aufeinanderfolgende Werte eine absteigende Tendenz aufweisen.

1.2 Richtigkeitskontrolle

An jedem Untersuchungstag wird aus einer Kontrollprobe (Standard-Human-Plasma) ein Istwert bestimmt. Aus diesem wird die prozentuale Abweichung vom Sollwert errechnet.

$$\text{Prozentuale Abweichung} = \frac{(\text{Sollwert} - \text{Istwert}) \times 100}{\text{Sollwert}}$$

Die Übereinstimmung von Sollwert und Istwert gilt dann als ausreichend, wenn die prozentuale Abweichung kleiner ist als der dreifache Variationskoeffizient. Diese darf aber nicht größer als 10 %, bei Enzymaktivitätsbestimmungen nicht größer als 20 % sein.

2. Statistische Auswertung der Messwerte

Die statistische Auswertung meiner Messreihen erfolgte unter der freundlichen Anleitung von Frau Dr. Imme Haubitz auf der Rechenanlage TR 440 des Rechenzentrums der Universität Würzburg. Dabei wurden die Programmsysteme BMDP (Dixon-Brugger), PSYCT 200 (Pausche) und Zeichenprogramme zur medizinischen Statistik (Haubitz) benutzt.

Folgende Tests wurden durchgeführt: Zählung und Berechnung von Mittelwert, Standardabweichung, mittlerer Fehler des Mittelwerts, Variationskoeffizient, Test auf Normalverteilung, Winsorisierung, Korrelationen, T-Test für verbundene Proben, Wilcoxon-Test und Vorzeichentest.
Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0{,}05$ festgesetzt.

III. Ergebnisse

Die statistische Auswertung der im Rahmen der Untersuchung erstellten Meßreihen erbrachte folgendes:

Bei Versuchsende zeigte sich ein stark signifikanter Anstieg des Blutzuckers ($p = 0{,}004$). Gleichzeitig stieg der Erythrozytengehalt an Glukose signifikant an ($p = 0{,}014$). Der Pyruvatspiegel war nach 14-tägiger Kallikreingabe stark signifikant erhöht ($p = 0{,}003$). Signifikant erhöht ($p = 0{,}015$) war die Pyruvatkonzentration der Erythrozyten.

Das Laktat fiel nach 7 Tagen stark signifikant ($p = 0{,}002$) im Blut ab und kehrte nach 14 Tagen fast bis zum Ausgangswert zurück.

Der ATP-Spiegel im Blut und Erythrozyten sank ab, wies aber im Wilcoxon-Test keine Signifikanz auf.

Die Elektrolyte Natrium und Kalium verhielten sich weder auffallend noch signifikant.

Beim Säurebasenhaushalt waren mit Ausnahme des aktuellen pH keine Kallikreinwirkungen erkennbar. Das aktuelle pH zeigte nach 7 Tagen einen signifikanten Anstieg ($p = 0{,}048$), der nach 14 Tagen entsprechend dem Verhalten des Laktats nicht mehr nachzuweisen war. Bei der Kontrolle des Blutbildes zeigte sich ein deutlicher Abfall des Hämatokrit verbunden mit signifikanten Erniedrigungen von Erythrozytenzahl ($p = 0{,}026$), Hb ($p = 0{,}012$) und Hb_E ($p = 0{,}025$). Das mittlere Zellvolumen (MCV) blieb unverändert. Es müssen jedoch die für die Bestimmungen entnommenen Blutmengen (insgesamt ca. 155 ml) berücksichtigt werden.

Bezüglich des TEG, der Plättchenaggregation und der Euglobulinlyse wies der Gerinnungsstatus keine Änderungen auf. Es ergaben sich jedoch eine signifikante Aktivitätssteigerung des Faktors V ($p = 0{,}01$), sowie ein leichtes Ansteigen der Aktivitäten der Faktoren II ($p = 0{,}123$) und X ($p = 0{,}063$). Fibrinogen ($p = 0{,}027$) und Hagemanfaktor ($p = 0{,}013$) hatten signifikant verringerte Aktivitäten.

Einphasentest nach Quick, Plasmathrombinzeit und Partielle Thrombinzeit PTT waren geringfügig, jedoch nicht signifikant verkürzt.

Erläuterungen zur tabellarischen Darstellung der Ergebnisse

Auf den folgenden Seiten sind die Ergebnisse in Form von Tabellen und Graphiken dargestellt. Um deren Verständnis zu erleichtern, sind vorab die verwandten Abkürzungen aufgeführt und kurz erläutert:

MW = Mittelwert
MFW = Mittlerer Fehler des Mittelwertes
StA = Standardabweichung
VK = Variationskoeefizient
NV = Normalverteilung
es bedeuten:
ns = nicht signifikant, d.h. die Werte sind "normalverteilt"
shs = schwach signifikant
s = signifikant
ss = stark signifikant
bei schwach siginifikanter, signifikanter oder stark signifikanter Normalverteilungsprüfung liegen ST 3 oder ST 4 außerhalb der zweiseitigen 5 % -, 2 % -, bzw. 1/2 % - Schranke. Die Testgrößen ST 3 und ST 4 sind aus den 3. bzw. 4. Momenten gebildet und asymptotisch N (0,1) -verteilt.

Wins = Winsorisierte Mittelwerte; Mittelwerte mit Vertrauensintervall (etwa 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit);
Bei k - facher Winsorisierung werden die k - größten und die k - kleinsten Werte einer Variablen durch den (k + 1) größten bzw. (k + 1) - kleinsten ersetzt und geeignete Korrekturen am T - Wert und dem Freiheitsgrad angebracht. Bei nur geringem Effiziensverlust sind die winsorisierten Mittelwerte robuster (werden durch eine Abweichung von der Normalverteilung weniger stark beeinflußt).

T-Test = Student t-Test für verbundene Stichproben; hat nur bei normalverteilten Messwerten Aussagekraft.

Wilc.-T = Wilcoxon Test; dies ist ein verteilungsunabhängiger Signifikanztest. Er ist in seiner Aussage jedoch nicht so scharf wie der t-Test.

N+/N- = Vorzeichentest

$p(t_o - t_7)$, $p(t_o - t_{14})$, $p(t_7 - t_{14})$; - gibt den Zeitraum an, für den in den entsprechenden Signifikanztests p ermittelt wurde.

	MW	MFH	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Ery.x10^6											
t = 0	5,047	0,06	0,271	0,054	ns	5.043±0,188	5,079±0,174	0,027	0,045	13/7	$p(t_o-t_7)$
t = 7	4,951	0,05	0,229	0,046	ns	4,939±0,149	4,949±0,188	0,026	0,041	15/5	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	4,943	0,06	0,25	0,05	ns	4,94 ±0,155	4,934±0,189	0,865	0,954	10/10	$p(t_7-t_{14})$
Hämatok.											
t = 0	44,78	0,648	2,9	0,065	ns	44,78±1,98	44,66±2,28	0,06	0,058	12/8	$p(t_o-t_7)$
t = 7	43,92	0,489	2,19	0,05	ns	43,89±1,53	43,84±1,75	0,045	0,096	11/8	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	43,83	0,426	1,9	0,043	s	43,94±1,1	44,19±1,07	0,868	0,938	10/10	$p(t_7-t_{14})$
Hämogl.											
t = 0	15,16	0,225	1,0	0,066	ns	15,14±0,696	15,19±0,7	0,092	0,108	13/6	$p(t_o-t_7)$
t = 7	14,87	0,179	0,8	0,054	ns	14,86±0,495	14,83±0,49	0,012	0,017	14/4	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	14,73	0,171	0,76	0,052	ns	14,72±0,535	14,8 ±0,52	0,587	0,538	11/9	$p(t_7-t_{14})$
Hb_E											
t = 0	30,91	0,219	0,98	0,032	ns	30,88±0,68	30,78±0,68	0,138	0,175	12/7	$p(t_o-t_7)$
t = 7	30,66	0,24	1,07	0,035	sns	30,65±0,7	30,51±0,68	0,014	0,025	12/5	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	30,35	0,254	1,15	0,038	s	30,29±0,69	30,24±0,71	0,047	0,072	14/5	$p(t_7-t_{14})$
MCV											
t = 0	87,6	0,591	2,64	0,03	ns	87,7 ±1,79	87,85±1,94	0,655	0,515	6/8	$p(t_o-t_7)$
t = 7	87,9	0,593	2,65	0,03	ns	87,9 ±1,94	87,6 ±1,81	0,63	0,673	6/7	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	87,75	0,611	2,73	0,03	ns	87,6 ±1,78	87,95±1,69	0,676	1,0	7/6	$p(t_7-t_{14})$

Einheiten: Hk - Vol.% Hb - g/100ml Hb_E - pg MCV - μm^3 Erythrozyten- /ul

	$\bar{x}$	s	StA	VK	KV	1 - Min	3 - Min	T-Test	sig.-P	+/-	
Akt. pH											
t = 0	7,43	0,005	0,02	0,003	ss	7,431±0,015	7,433±0,013	0,027	0,048	5/11	$p(t_0\text{-}t_7)$
t = 7	7,42	0,004	0,013	0,002	ss	7,416±0,013	7,415±0,013	0,207	0,304	7/12	$p(t_0\text{-}t_{14})$
t = 14	7,44	0,00[illegible]	0,02[illegible]	0,004	ns	7,442±0,010	1,444±0,32	0,562	0,645	11/3	$p(t_7\text{-}t_{14})$
Akt. pCO_2											
t = 0	31,41	0,757	3,30	0,108	ns	31,5 ±2,31	31,56±2,26	0,706	0,832	12/8	$p(t_0\text{-}t_7)$
t = 7	30,91	1,002	4,48	0,145	ss	31,45±2,13	31,3 ±2,44	0,7	0,71	10/10	$p(t_0\text{-}t_{14})$
t = 14	31,05	0,561	2,04	0,051	ns	31,07±1,[illegible]1	30,99±1,97	0,8[illegible]	0,[illegible]01	8/11	$p(t_7\text{-}t_{14})$
Bas.Üb.											
t = 0	-2,23	0,[illegible]49	2,01	-0,[illegible]	ns	-2,17±1,34	-2,25±1,46	0,[illegible]01	0,52	7/10	$p(t_0\text{-}t_7)$
t = 7	-1,[illegible]8	0,[illegible]63	2,1[illegible]	-1,1	ns	-1,[illegible]7±1,22	-1,6[illegible]±1,36	0,[illegible]73	0,[illegible]73	9/11	$p(t_0\text{-}t_{14})$
t = 14	-1,[illegible]1	0,[illegible]4	2,17	-1,1	ns	-1,92±1,44	-2,0[illegible]±1,43	0,3[illegible]5	0,[illegible]21	9/9	$p(t_7\text{-}t_{14})$
Puf.Bas.											
t = 0	45,38	0,921	4,12	0,09	shs	45,28±2,07	44,97±2,51	0,5[illegible]3	0,[illegible]76	10/9	$p(t_0\text{-}t_7)$
t = 7	44,63	0,757	3,39	0,08	ns	44,66±2,21	44,07±2,29	0,299	0,763	8/12	$p(t_0\text{-}t_{14})$
t = 14	44,41	0,[illegible]54	2,4[illegible]	0,0[illegible]	ns	44,44±1,65	44,48±2,07	0,838	0,846	11/8	$p(t_7\text{-}t_{14})$

Einheiten: Aktuelles pCO_2 - mmHg ; Basen Überschuß - mmol/l Blut ; Pufferbasen - mmol/l Blut

	MW	MFH	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Stan.Bi.											
t = 0	22,54	0,373	1,67	0,074	ns	22,59±1,14	22,53±1,21	0,504	0,762	9/8	$p(t_o-t_7)$
t = 7	22,84	0,388	1,74	0,076	ns	22,93±1,08	22,99±1,39	0,725	0,876	10/10	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	22,7	0,387	1,73	0,076	ns	22,75±1,16	22,58±1,28	0,806	0,891	9/9	$p(t_7-t_{14})$
Akt.Bic.											
t = 0	20,54	0,555	2.48	0,121	ns	20,62±1,68	20,55±1,49	0,783	0,954	11/8	$p(t_o-t_7)$
t = 7	20,77	0,687	3,07	0,148	ss	21,15±1,42	21,29±1,63	0,778	0,846	9/10	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	20,74	0,518	2,32	0,112	ns	20,74±1,62	20,69±1,56	0,973	0,891	10/10	$p(t_7-t_{14})$
Tot.CO_2											
t = 0	21,5	0,575	2,57	0,12	ns	21,58±1,74	21,51±1,51	0,798	0,891	12/8	$p(t_o-t_7)$
t = 7	21,72	0,717	3,2	0,148	ss	22,12±1,49	22,24±1,69	0,765	0,891	11/9	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	21,72	0,537	2,4	0,111	ns	21,72±1,55	21,67±1,62	0,999	0,923	10/10	$p(t_7-t_{14})$

Abkürzungen: Standard Bicarbonat - mmol/l Plasma ; Aktuelles Bicarbonat - mmol/l Plasma ;Totales CO_2 - mmol/l Plasma ;

	MW	MF	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Gluk/Serum											
t = 0	5,32	0,16	0,83	0,156	ns	5,32±0,53	5,33±0,55	0,598	0,657	12/8	$p(t_o-t_7)$
t = 7	5,12	0,2	0,9	0,176	s	5,14±0,53	5,13±0,52	0,238	0,169	5/15	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	5,51	0,19	0,85	0,154	ns	5,5 ±0,59	5,46±0,64	0,102	0,117	7/13	$p(t_7-t_{14})$
Gluk/Blut											
t = 0	4,78	0,17	0,74	0,156	ns	4,8 ±0,5	4,86±0,52	0,752	0,57	8/11	$p(t_o-t_7)$
t = 7	4,83	0,17	0,74	0,153	ns	4,89±0,42	4,91±0,46	0,004	0,004	4/16	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	5,3	0,13	0,6	0,113	ns	5,28±0,4	5,25±0,46	0,007	0,01	5/15	$p(t_7-t_{14})$
Gluk/Eryt.											
t = 0	4,1	0,27	1,2	0,293	ns	4,1 ±0,86	4,25±0,78	0,245	0,253	8/12	$p(t_o-t_7)$
t = 7	4,49	0,28	1,24	0,276	ns	4,49±0,85	4,41±0,93	0,014	0,019	7/13	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	5,01	0,18	0,79	0,158	ns	5,03±0,53	4,99±0,6	0,131	0,079	6/14	$p(t_7-t_{14})$
ATP/Serum											
t = 0	78,07	5,18	23,2	0,297	ns	78,07±15,91	80,66±17,86	0,579	0,876	9/8	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	83,25	6,95	31,3	0,373	shs	83,68±19,53	79,8 ±15,7				
ATP/Blut											
t = 0	465,9	22,7	101,8	0,219	s	456,4 ±54,1	460,3 ±56,2	0,067	0,082	11/9	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	420,6	16,8	75,2	0,179	ns	417,1 ±41,9	427,5 ±39,5				
ATP/Eryt.											
t = 0	939,5	39,7	177,7	0,189	ns	925,1 ±100,4	933,6 ±104	0,06	0,108	14/6	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	852,1	32,5	145,5	0,171	s	850,3 ± 69	854,7 ± 64,1				

Einheiten: Glukose - mmol/l ; ATP - µmol/l

	MW	MFM	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Pyru/Serum											
t = 0	86,88	6,06	27,1	0,312	ns	86,79±17,66	86,38±21,22	0,249	0,222	7/13	$p(t_o-t_7)$
t = 7	96,7	7,6	34	0,351	ns	96,79±23,38	95,89±23,85	0,604	0,533	9/11	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	93,31	6,44	28,8	0,309	shs	91,36±16,09	90,55±19,99	0,75	0,737	11/ 9	$p(t_7-t_{14})$
Pyru/Blut											
t = 0	78,06	3,93	17,6	0,226	shs	78,15±12,17	76,16±10,78	0,645	0,594	7/13	$p(t_o-t_7)$
t = 7	81,9	3,61	16,17	0,198	ns	81,13±10,05	80,95±11,81	0,001	0,003	4/16	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	94,07	5,25	23,5	0,25	s	92,9 ±14,2	90,86±13,29	0,031	0,026	4/16	$p(t_7-t_{14})$
Pyru/Eryt.											
t = 0	66,12	8	35,81	0,541	ns	67,07±24,5	65 ±28,1	0,758	0,55	13/7	$p(t_o-t_7)$
t = 7	83,63	6,97	30,21	0,477	ns	81,9 ±17,7	81,1 ±19,9	0,015	0,02	6/14	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	95,62	8,9	39,8	0,415	ns	95,5 ±25,4	96,7 ±29,3	0,007	0,006	3/17	$p(t_7-t_{14})$
Lakt/Serum											
t = 0	2,58	0,14	0,62	0,242	ns	2,56± 0,36	2,57± 0,41	0.098	0,141	14/5	$p(t_o-t_7)$
t = 7	2,34	0,15	0,61	0,291	ns	2,29± 0,42	2,32± 0,41	0.593	0,637	7/13	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	2,68	0,13	0,6	0,223	ns	2,68± 0,43	2,7 ± 0,5	0,087	0,047	5/15	$p(t_7-t_{14})$
Lakt/ Blut											
t = 0	1,22	0,07	0,34	0,279	ns	1,22± 0,21	1,2 ± 0,2	0,002	0,003	16/ 4	$p(t_o-t_7)$
t = 7	0,93	0,06	0,27	0,287	ns	0,93± 0,18	0,92± 0,21	0,51	0,608	11/ 8	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	1,17	0,06	0,27	0,235	ns	1,17± 0,19	1,17± 0,21	0,012	0,009	4/15	$p(t_7-t_{14})$

Einheiten: Pyruvat - µmol/l ; Laktat - mmol/l ;

	MW	MFM	StA	VK	KV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Na / Serum											
t = 0	139	0,64	2,87	0,021	ns	139,05±1,89	139,05±2,27	0,821	0,922	9/ 9	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	139,3	1,37	6,12	0,044	ns	139,15±4,17	138,85±4,17				
Na / Hämo.											
t = 0	79,65	1,08	4,81	0,06	ns	79,7 ±3,45	80,15±3,2	0,157	0,145	12/ 6	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	78,15	0,85	3,8	0,049	ns	78,1 ±2,56	77,95±2,63				
K / Serum											
t = 0	4,06	0,07	0,34	0,085	ns	4,04±0,21	4,03±0,26	0,124	0,082	7/13	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	4,19	0,06	0,27	0,064	ns	4,2 ±0,16	4,19±0,18				
K / Hämol.											
t = 0	44,03	0,8	3,59	0,081	ns	44 ±2,26	43,89±1,87	0,62	0,538	12/ 7	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	43,57	0,8	3,64	0,084	ss	43,2 ±1,7	43,2 ±2,17				

Einheiten : Natrium - mmol/l ; Kalium - mmol/l

	MW	MFH	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Quickzeit											
t = 0	14,92	0,068	0,302	0,02	ns	14,9 ± 0,19	14,88 ± 0,19	0,544	0,983	11/ 9	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	14,8	0,158	0,705	0,048	ns	14,8 ± 0,45	14,85 ± 0,42				
PTT											
t = 0	26,20	0,5	2,23	0,085	ns	26,27 ± 1,52	26,21 ± 1,94	0,594	0,262	13/ 6	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	25,36	0,85	3,82	0,15	ns	25,34 ± 2,49	25,25 ± 3,9				
INR											
t = 0	39,06	0,681	3,94	0,1	sho	38,99 ± 2,79	39,01 ± 3,65	0,108	0,147	13/ 7	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	37,68	0,791	3,54	0,095	ns	37,1 ± 2,27	37,02 ± 2,69				
Throm. $X10^3$											
t = 0	234,9	10,4	46,47	0,198	s	231,45 ± 25,6	229,5 ± 27	0,096	0,108	14/ 6	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	224,8	8,8	39,36	0,175	ns	222,5 ± 23,2	221,55 ± 27,2				

Es werden alle Gerinnungszeiten in Sekunden angegeben. Thrombozytenzahl - /µl

	MW	MFM	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
Faktor I											
t = 0	11,51	0,367	1,64	0,143	s	11,35 ± 0,92	11,28 ± 0,98	0,039	0,027	5/14	$p(t_o\text{-}t_{14})$
t = 14	12,35	0,318	1,42	0,115	ns	12,33 ± 0,78	12,25 ± 0,94				
Faktor II											
t = 0	33,72	0,574	2,57	0,076	ns	33,63 ± 1,59	33,5 ± 1,98	0,123	0,235	10/ 7	$p(t_o\text{-}t_{14})$
t = 14	32,63	0,732	3,27	0,1	ns	32,62 ± 2,35	32,86 ± 2,53				
Faktor V											
t = 0	43,05	0,681	3,05	0,071	ns	43,05 ± 2,11	43,15 ± 2,59	0,01	0,012	13/ 6	$p(t_o\text{-}t_{14})$
t = 14	39,95	0,979	4,38	0,11	ns	39,99 ± 3,11	39,92 ± 3,49				
Faktor X											
t = 0	31,05	0,402	1,8	0,058	shs	31,05 ± 1,32	31,33 ± 1,05	0,053	0,063	12/ 7	$p(t_o\text{-}t_{14})$
t = 14	29,63	0,745	3,33	0,112	s	29,83 ± 1,92	30,18 ± 1,83				
Faktor XII											
t = 0	52,24	0,852	3,81	0,073	ns	52,22 ± 2,69	51,91 ± 2,78	0,013	0,025	7/13	$p(t_o\text{-}t_{14})$
t = 14	54,63	1,07	4,28	0,088	ns	54,65 ± 3,46	54,43 ± 4,13				

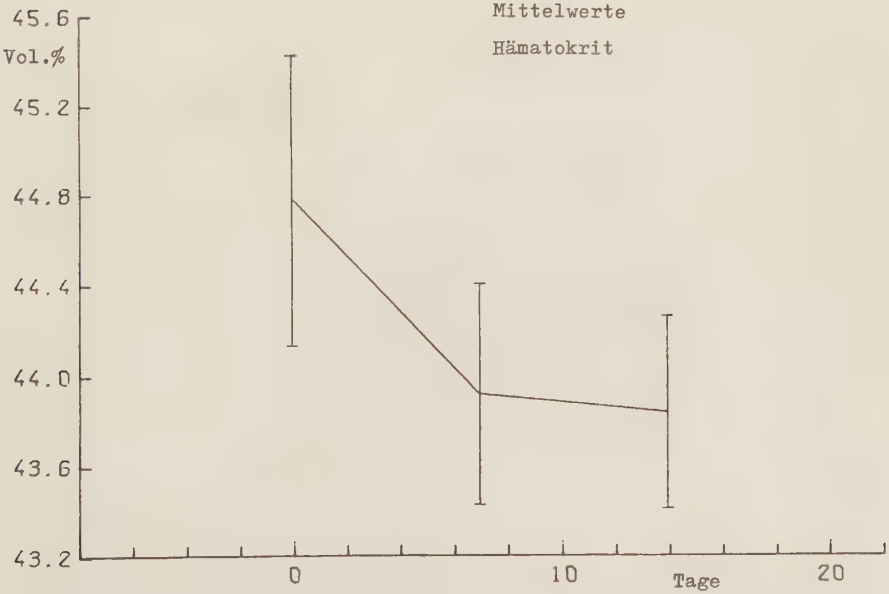
Es werden alle Gerinnungszeiten in Sekunden angegeben.

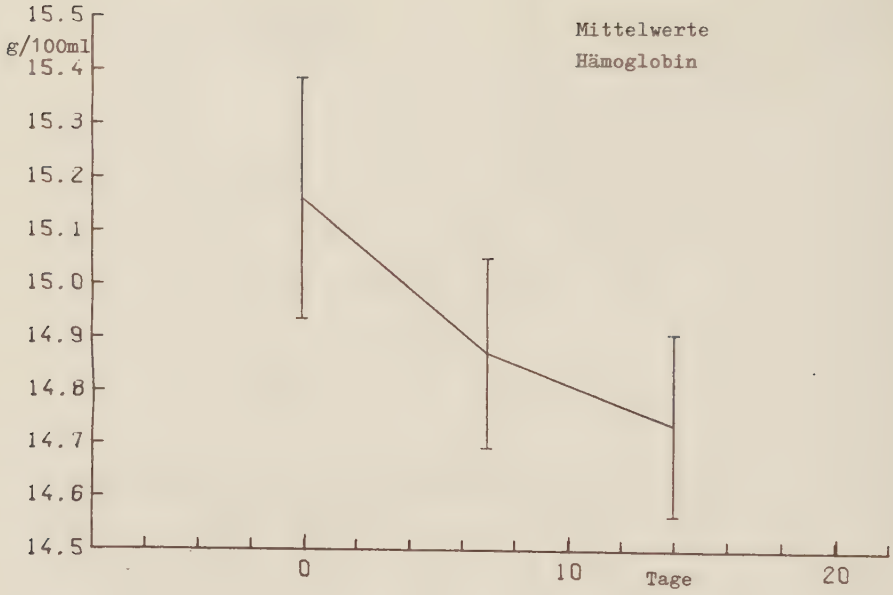
	MW	MFM	StA	VK	NV	1 - Win	3 - Win	T-Test	Wilc.-T	N+/N-	
TEG r											
t = 0	6,51	0,193	0,864	0,133	ns	6,49 ± 0,6	6,5 ± 0,69	0,317	0,262	6/14	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	6,78	0,18	0,807	0,119	ns	6,76 ± 0,54	6,76 ± 0,57				
TEG k											
t = 0	6,92	0,333	1,49	0,215	ns	6,95 ± 0,99	7,01 ± 1,26	0,552	0,679	9/11	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	7,09	0,322	1,44	0,203	ns	7,08 ± 1	6,93 ± 0,88				
TEG [illegible]											
t = 0	37,3	0,927	4,15	0,111	ns	37,35 ± 2,64	37,53 ± 2,09	1	0,552	9/ 6	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	37,3	1,1	4,9	0,131	ns	37,25 ± 3,5	37,15 ± 3,13				
TEG L_A											
t = 0	60,17	2,3	10,27	0,171	ns	60,13 ± 6,51	60,38 ± 5,42	0,871	0,52	9/ 6	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	60,5	2,98	13,31	0,22	shs	60,35 ± 9,46	59,55 ± 7,9				
Aggrez. 1											
t = 0	69,28	2,56	10,88	0,157	ns	69,39 ± 8,44	70,94 ± 8,04	0,288	0,3	6/ 9	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	68,58	4,11	17,43	0,254	shs						
Aggrez. 2											
t = 0	34,2	[illegible]	20,03	[illegible]	[illegible]			[illegible]	[illegible]	1/ 2	$p(t_o-t_{14})$
t = 14	22,13	3,23	9,13	0,412	ns						

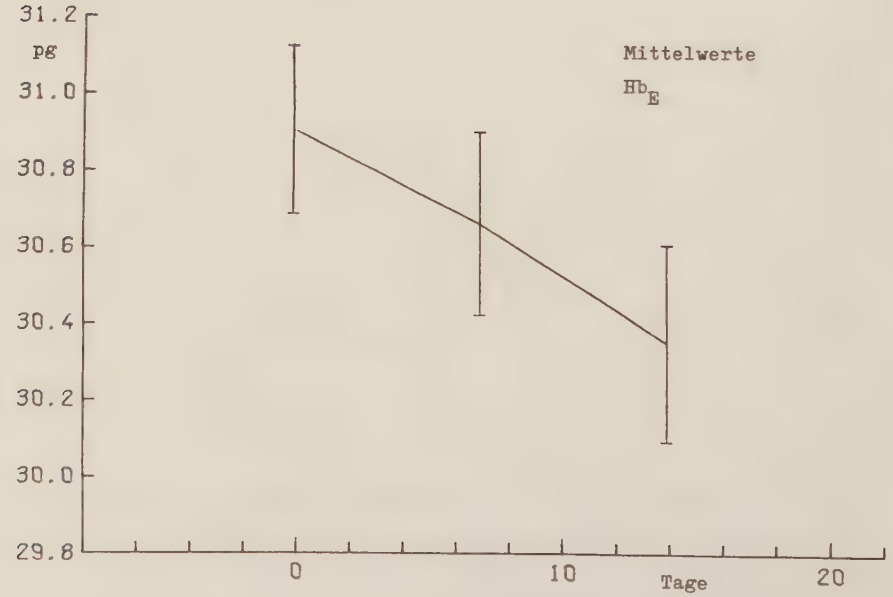
Einheiten : TEG : r = Minuten ; k = Minuten ; L_A = mm ;

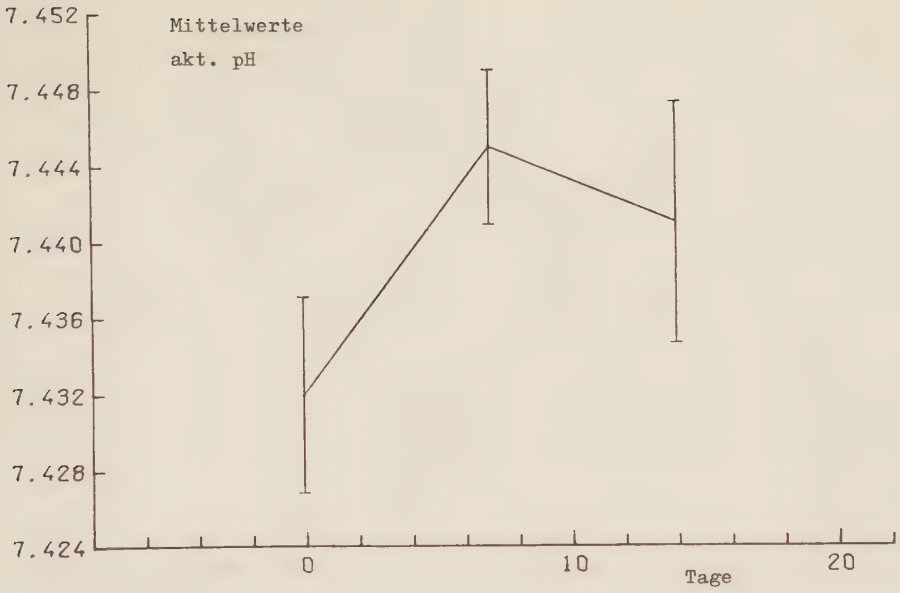
Aggregation : α_1, α_2 = **Grad** ; Der Winkel α_2 trat nur bei $\alpha(t_o)$ bzw. $\alpha(t_{14})$ Probanden auf.

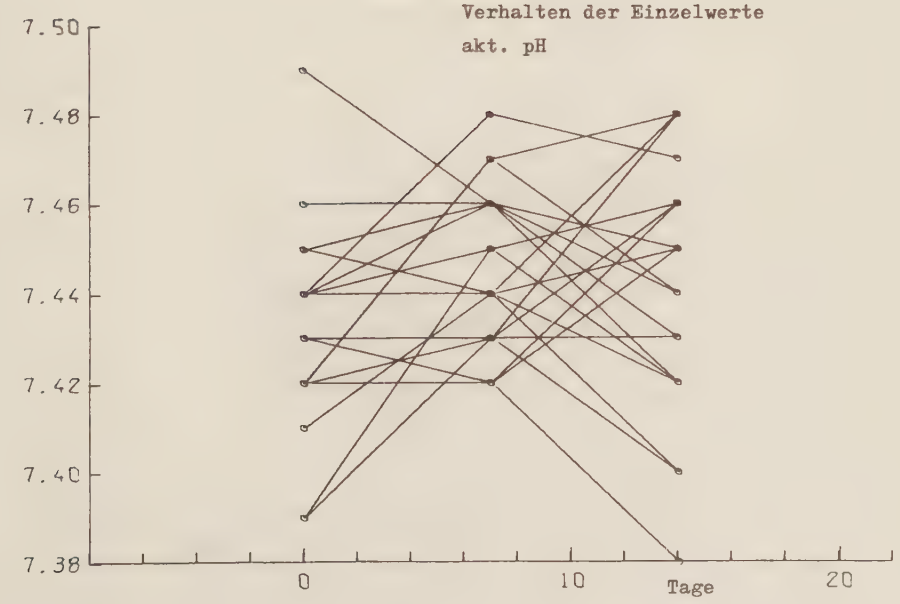
5.12
X 10^6
5.08
5.04
5.00
4.96
4.92
4.88
4.84
Mittelwerte
Erythrozytenzahl
0
10
Tage
20

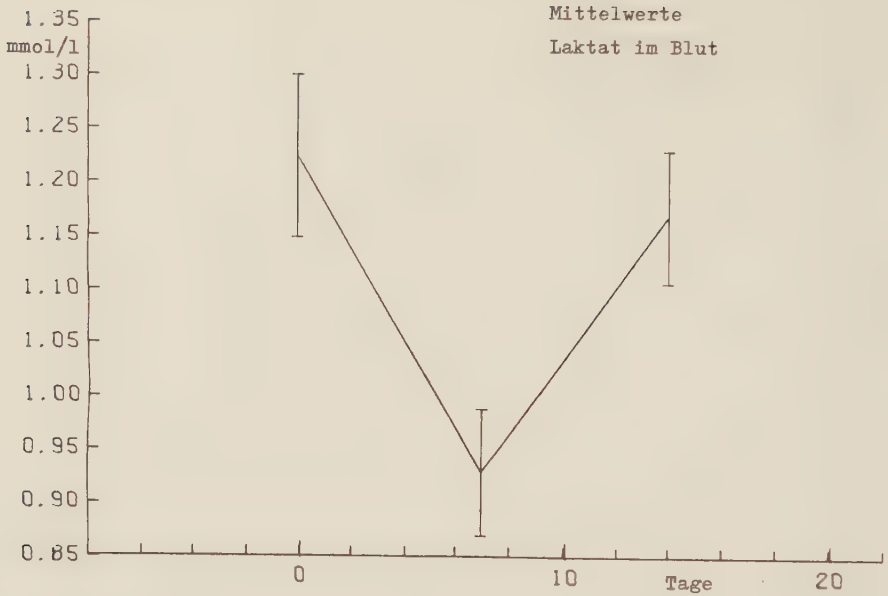

45.6
Vol.%
45.2
44.8
44.4
44.0
43.6
43.2
Mittelwerte
Hämatokrit
0
10
Tage
20

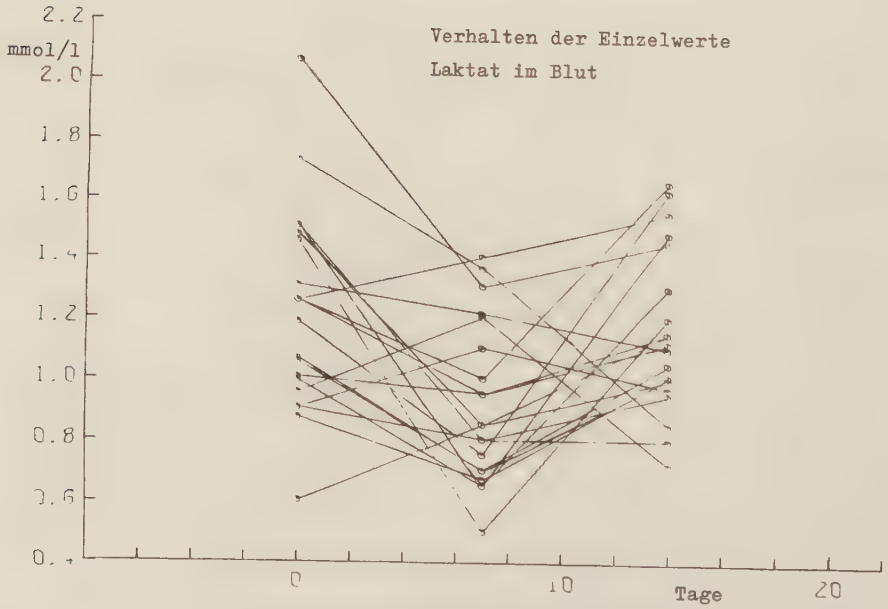

Mittelwerte
Hämoglobin
g/100ml
15.5
15.4
15.3
15.2
15.1
15.0
14.9
14.8
14.7
14.6
14.5
0
10
20
Tage


Mittelwerte
Hb_E
pg
31.2
31.0
30.8
30.6
30.4
30.2
30.0
29.8
0
10
20
Tage

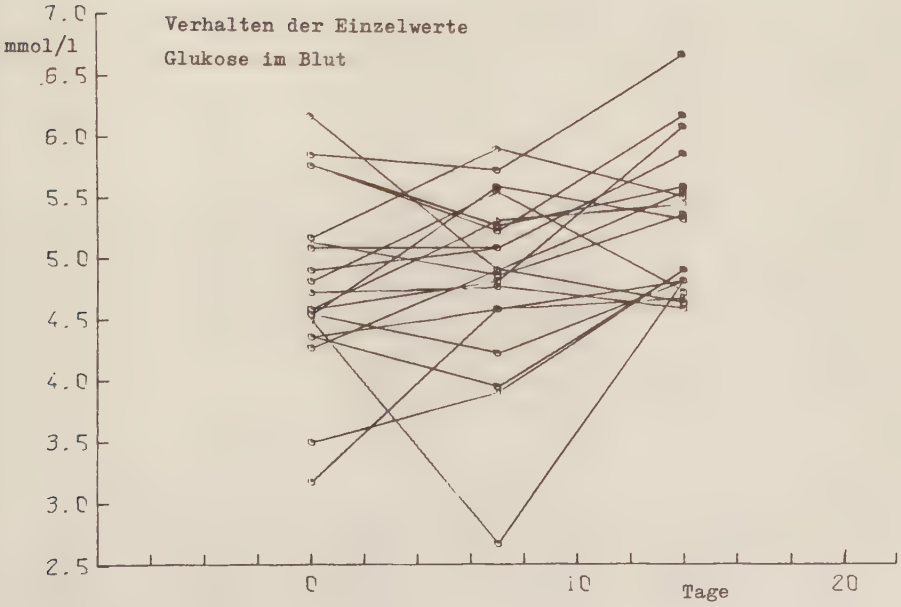

Mittelwerte
akt. pH
7.452
7.448
7.444
7.440
7.436
7.432
7.428
7.424
0
10
20
Tage

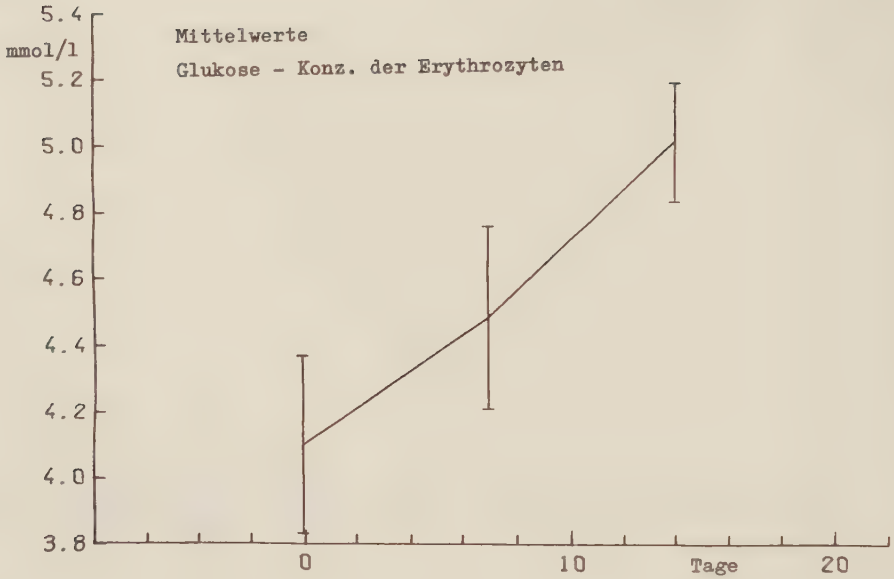

Verhalten der Einzelwerte
akt. pH
7.50
7.48
7.46
7.44
7.42
7.40
7.38
0
10
20
Tage

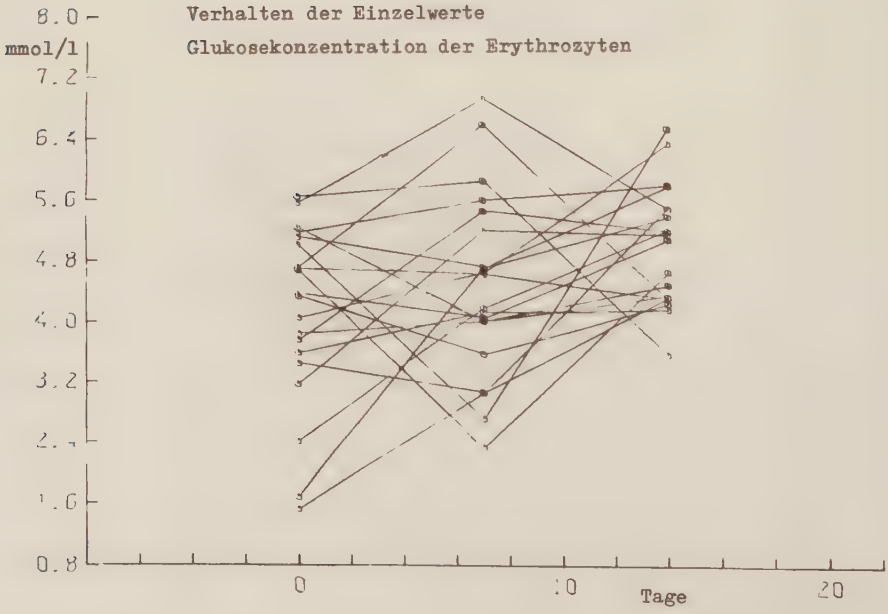

Mittelwerte
Laktat im Blut
1.35
mmol/l
1.30
1.25
1.20
1.15
1.10
1.05
1.00
0.95
0.90
0.85
0
10
Tage
20

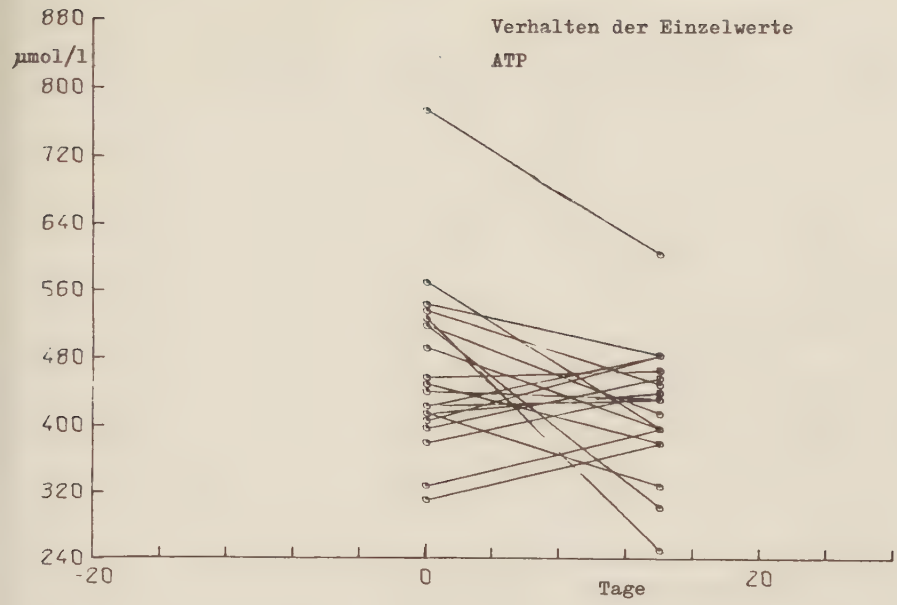

Verhalten der Einzelwerte
Laktat im Blut
2.2
mmol/l
2.0
1.8
1.6
1.2
1.0
0.8
0
10
Tage
20

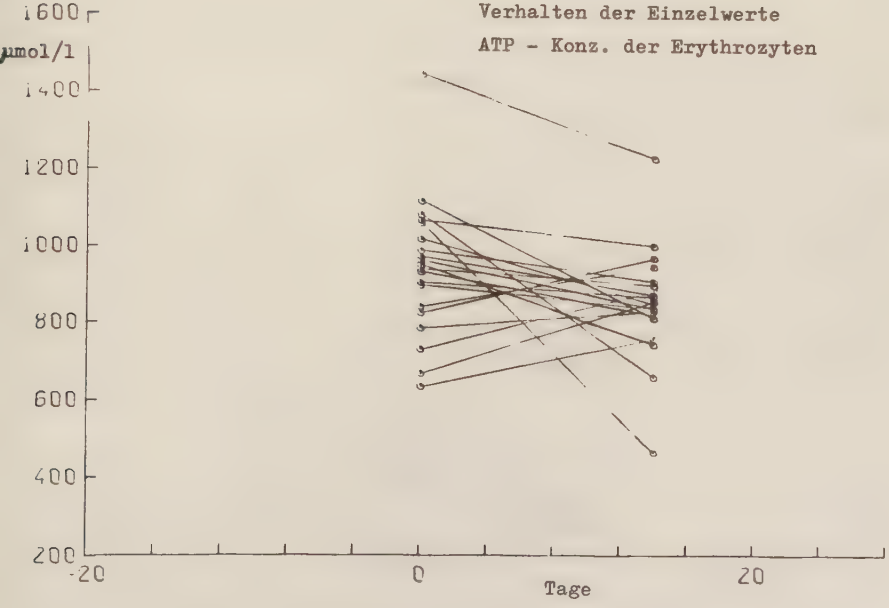
Mittelwerte
Glukose im Blut
mmol/l
5.5
5.4
5.3
5.2
5.1
5.0
4.9
4.8
4.7
4.6
0
10
Tage
20

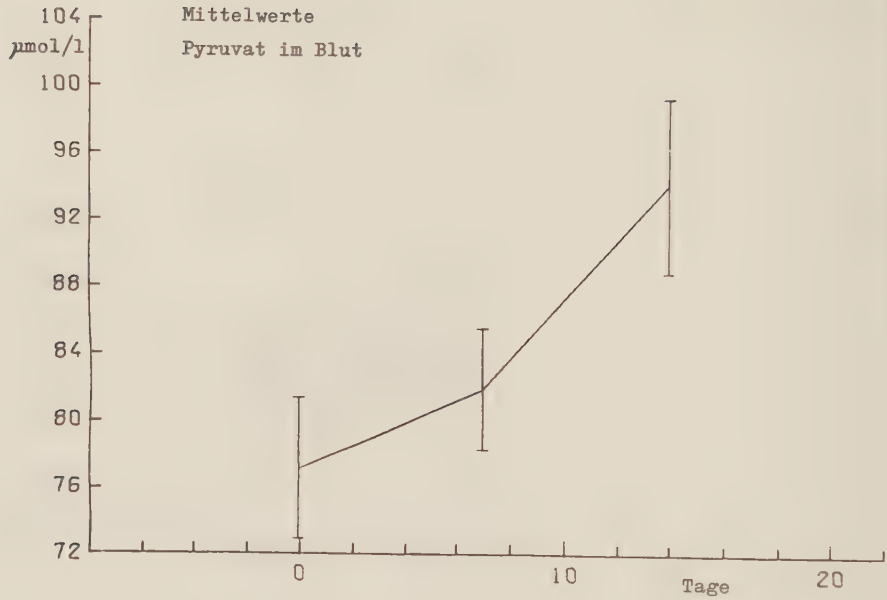

Verhalten der Einzelwerte
Glukose im Blut
mmol/l
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
0
10
Tage
20

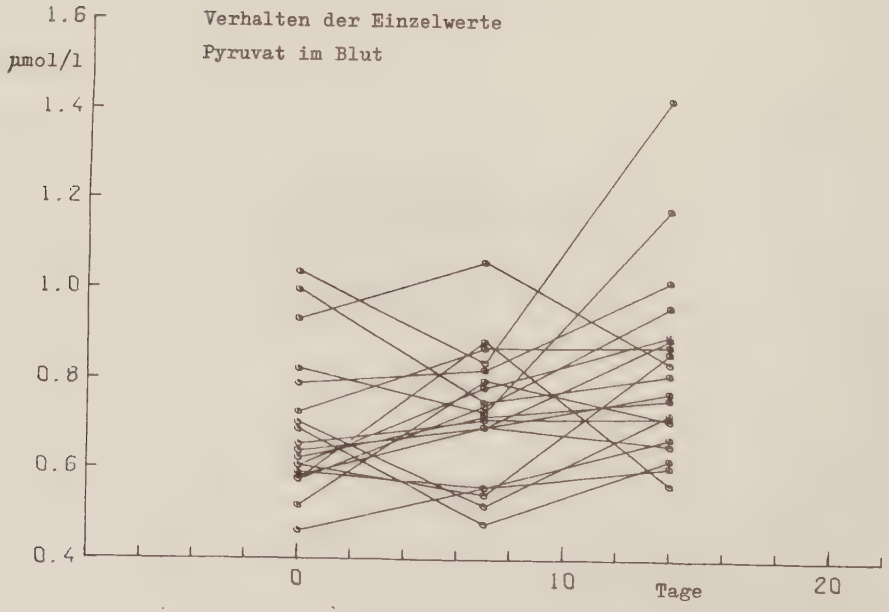

Mittelwerte
Glukose - Konz. der Erythrozyten
mmol/l
5.4
5.2
5.0
4.8
4.6
4.4
4.2
4.0
3.8
0
10
Tage
20

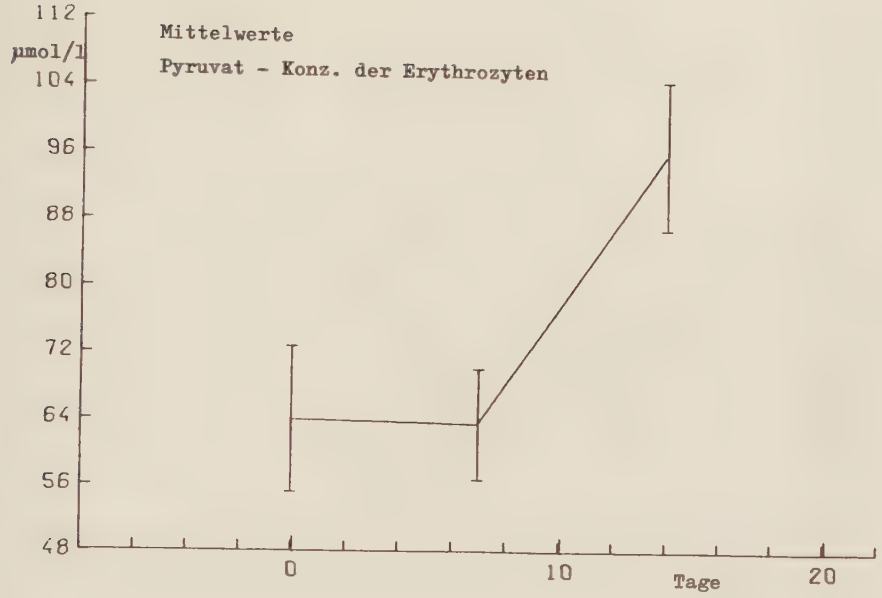

Verhalten der Einzelwerte
Glukosekonzentration der Erythrozyten
mmol/l
8.0
7.2
6.4
5.6
4.8
4.0
3.2
0.8
0
10
Tage
20

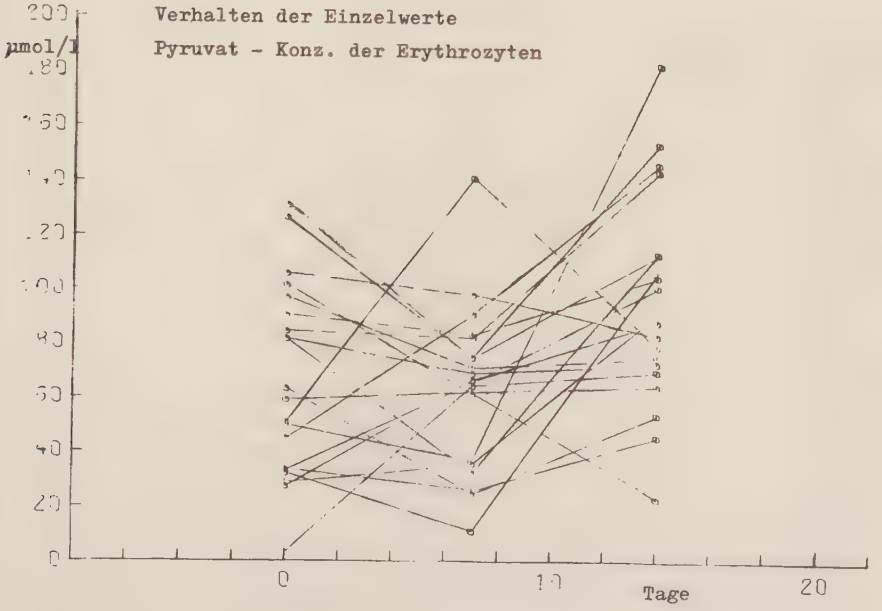

Verhalten der Einzelwerte
ATP
µmol/l
880
800
720
640
560
480
400
320
240
-20
0
20
Tage

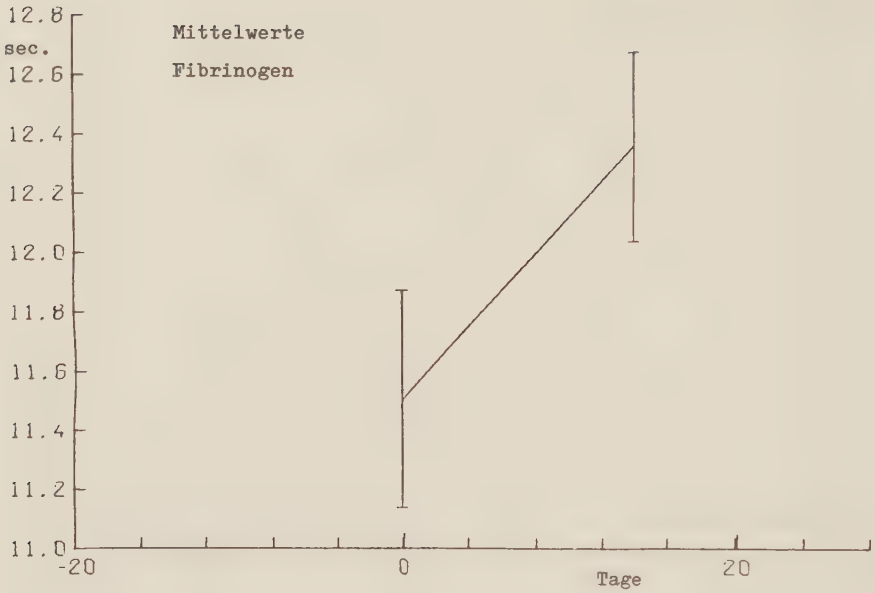

Verhalten der Einzelwerte
ATP - Konz. der Erythrozyten
µmol/l
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
-20
0
20
Tage

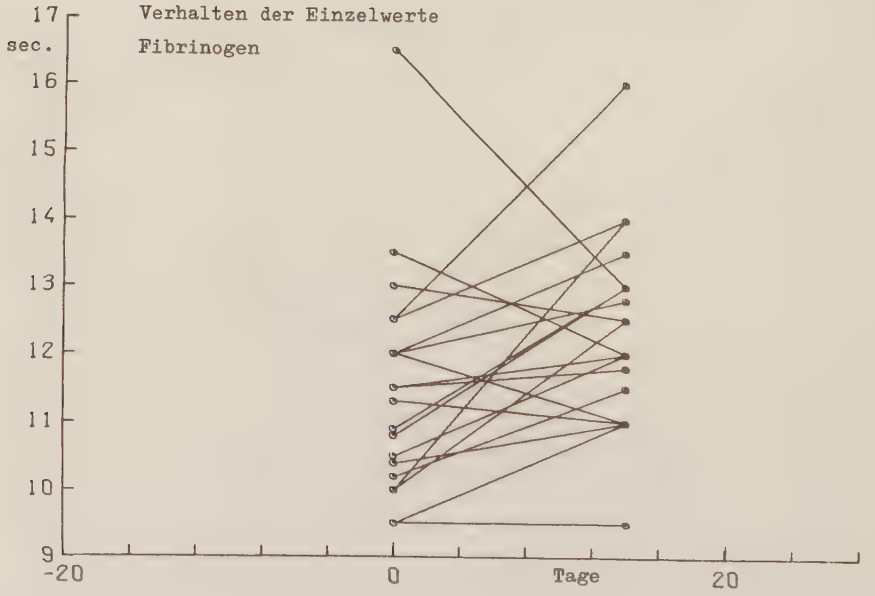

Mittelwerte
Pyruvat im Blut
µmol/l
104
100
96
92
88
84
80
76
72
0
10
20
Tage

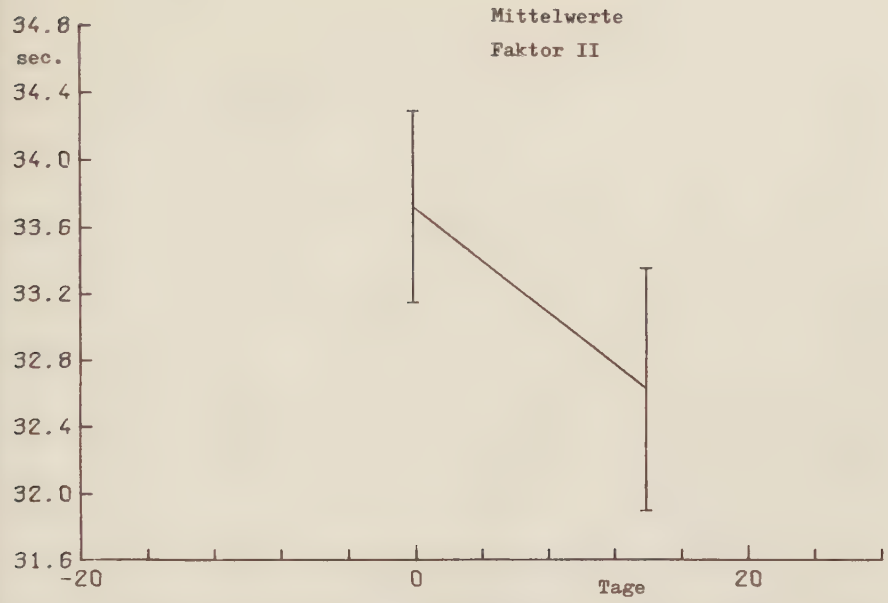

Verhalten der Einzelwerte
Pyruvat im Blut
µmol/l
1.6
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0
10
20
Tage

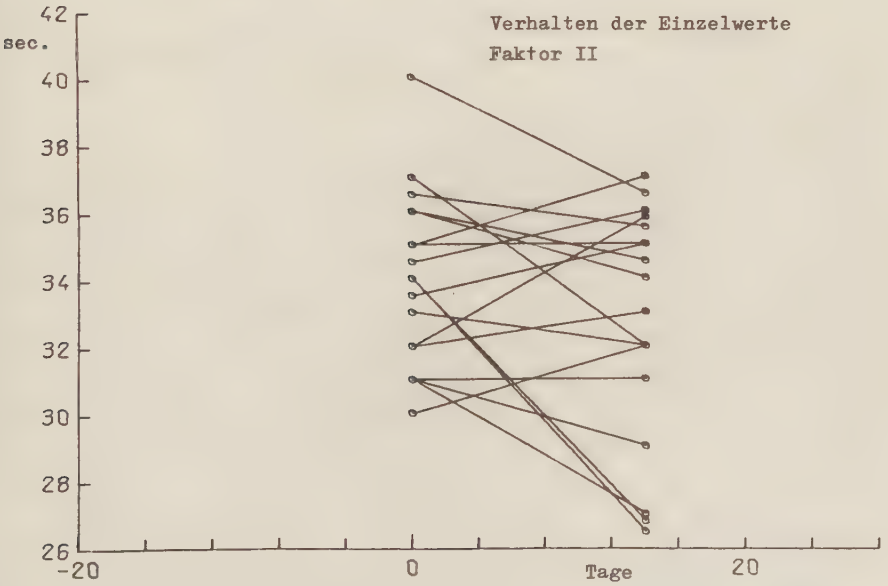

Mittelwerte
Pyruvat - Konz. der Erythrozyten
µmol/l
112
104
96
88
80
72
64
56
48
0
10
20
Tage

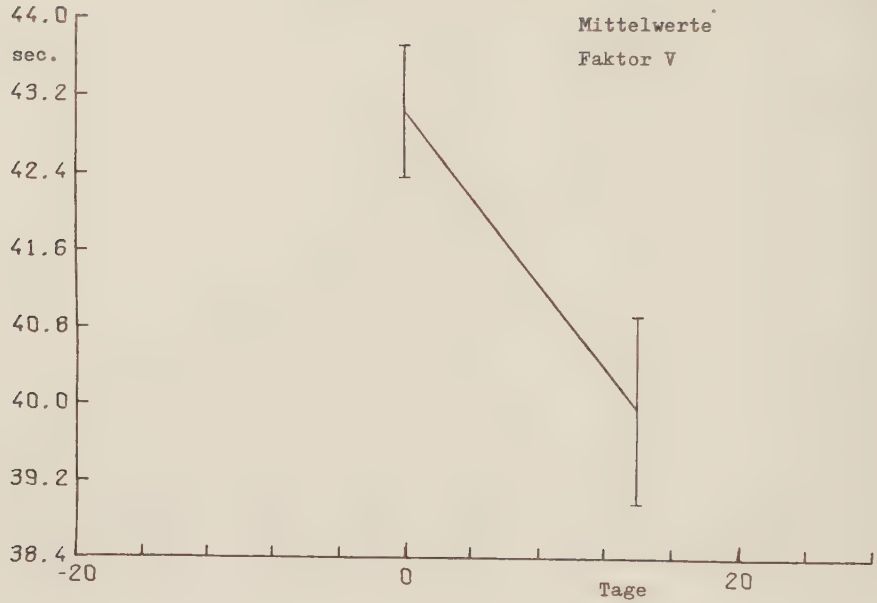

Verhalten der Einzelwerte
Pyruvat - Konz. der Erythrozyten
µmol/l
0
10
20
Tage

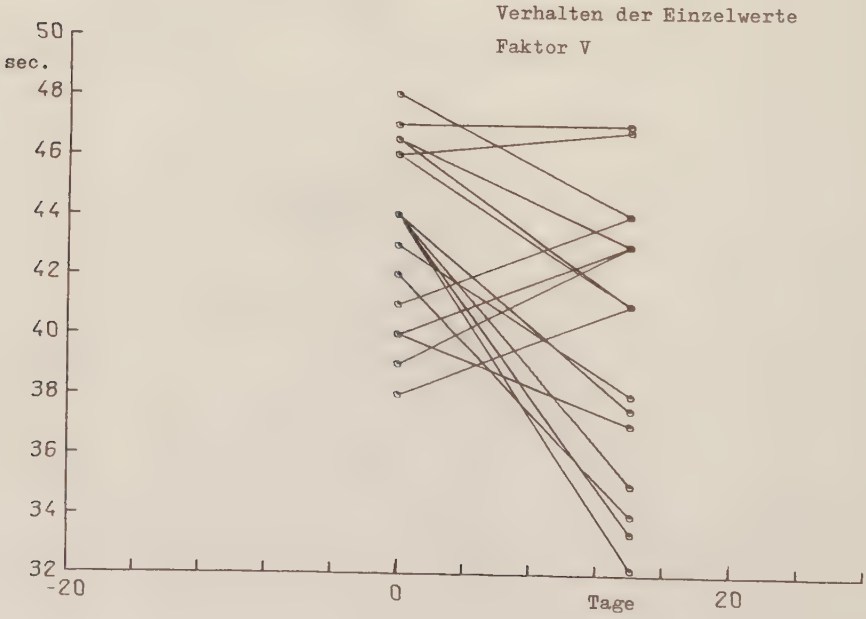

Mittelwerte
Fibrinogen
sec.
12.8
12.6
12.4
12.2
12.0
11.8
11.6
11.4
11.2
11.0
-20
0
20
Tage

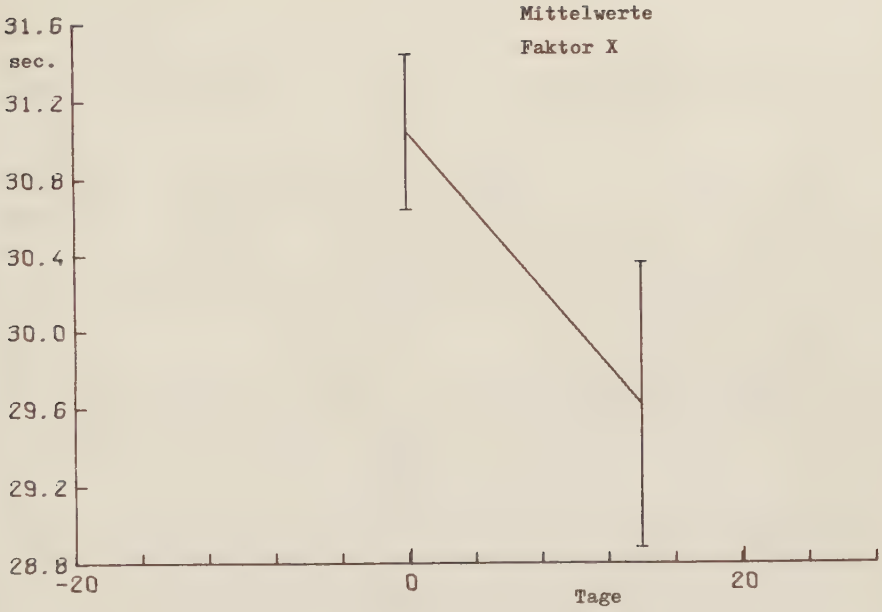

Verhalten der Einzelwerte
Fibrinogen
sec.
17
16
15
14
13
12
11
10
9
-20
0
Tage
20

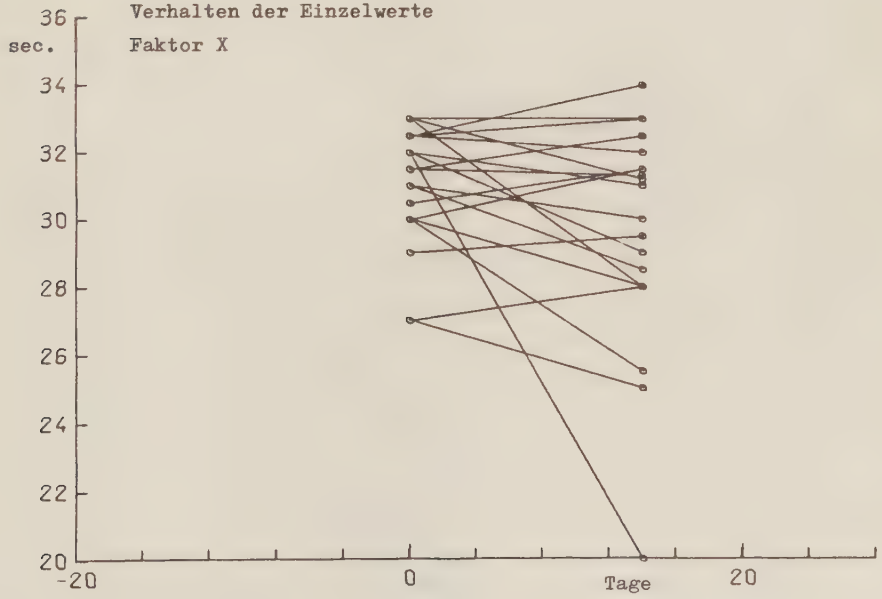

Mittelwerte
Faktor II
34.8
sec.
34.4
34.0
33.6
33.2
32.8
32.4
32.0
31.6
-20
0
Tage
20

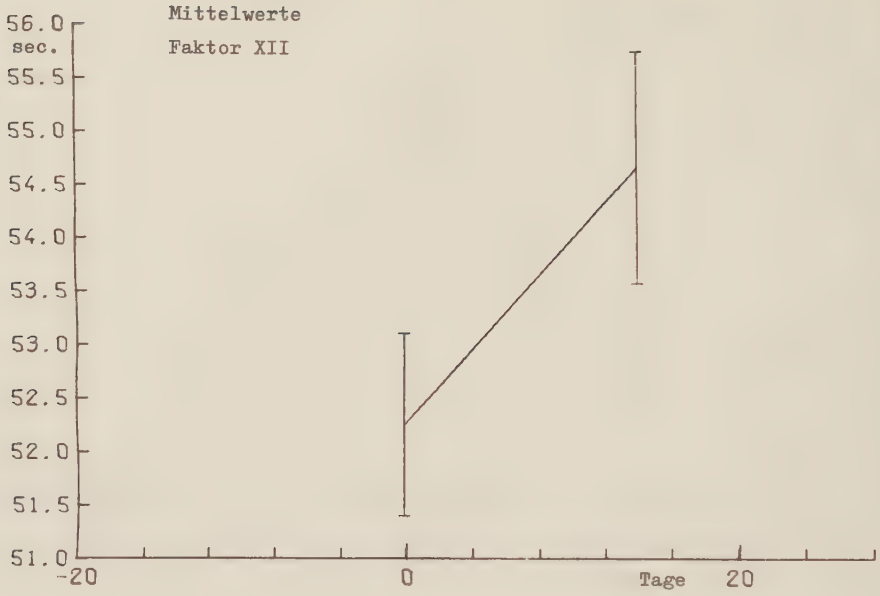

Verhalten der Einzelwerte
Faktor II
42
sec.
40
38
36
34
32
30
28
26
-20
0
Tage
20

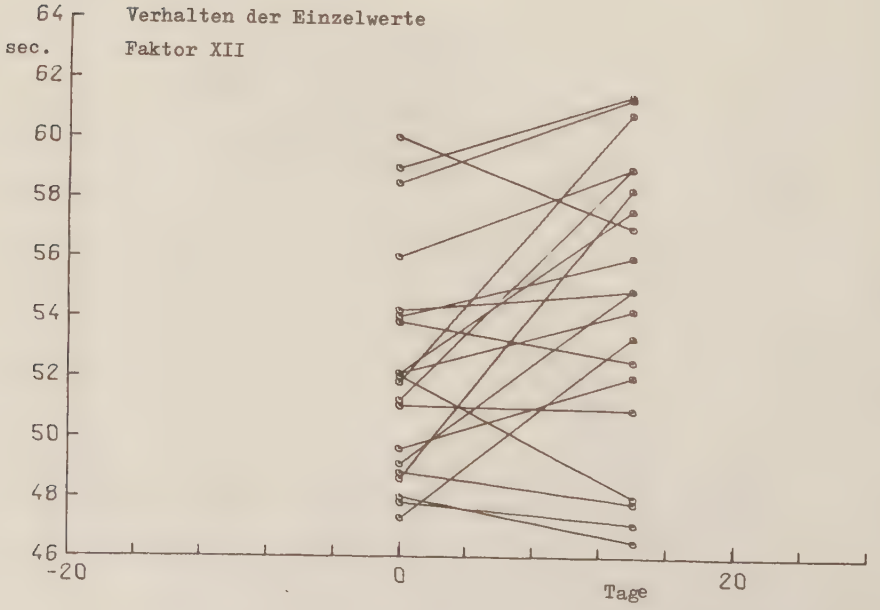

Mittelwerte
Faktor V
44.0
sec.
43.2
42.4
41.6
40.8
40.0
39.2
38.4
-20
0
Tage
20


Verhalten der Einzelwerte
Faktor V
50
sec.
48
46
44
42
40
38
36
34
32
-20
0
Tage
20


Mittelwerte
Faktor X
31.6
sec.
31.2
30.8
30.4
30.0
29.6
29.2
28.8
-20
0
20
Tage


Verhalten der Einzelwerte
Faktor X
36
sec.
34
32
30
28
26
24
22
20
-20
0
Tage
20


Mittelwerte
Faktor XII
56.0
sec.
55.5
55.0
54.5
54.0
53.5
53.0
52.5
52.0
51.5
51.0
-20
0
Tage
20


Verhalten der Einzelwerte
Faktor XII
64
sec.
62
60
58
56
54
52
50
48
46
-20
0
Tage
20

IV Diskussion

1. Verhalten der Elektrolyte Natrium und Kalium und des Säurebasenhaushaltes

Intra- und Extrazellulärraum unterscheiden sich im Gehalt an Elektrolyten. In den Zellen findet man eine hohe Kaliumkonzentration, in der Extrazellulärflüssigkeit dagegen eine hohe Natriumkonzentration. Diese unterschiedlichen Konzentrationen werden durch die sogenannte Natrium-Kalium-Pumpe aufrecht erhalten.

Aus Untersuchungen an menschlichen Erythrozyten zogen Flynn, Maizels und Glynn, als auch Harris den Schluß, daß der Natriumausstrom und das Einströmen des Kaliums gekoppelt sein müßten.

Bei meinen Untersuchungen zeigten die Mittelwerte für Natrium und Kalium in Serum und Hämolysat nur geringfügige Änderungen. Sie lagen jedoch sämtlich im Bereich der mittleren Fehler der Mittelwerte und lassen somit keine fundierten Aussagen zu.
Mit 139 $\pm$ 0,64 mmol/l bzw. 139,3 $\pm$ 1,37 mmol/l für das Serumnatrium und 4,06 $\pm$ 0,07 mmol/l bzw. 4,19 $\pm$ 0,06 mmol/l für das Serumkalium sind die von mir ermittelten Werte fast identisch mit den von Siegenthaler angegebenen Durchschnittswerten im Serum (Natrium: 140 mmol/l; Kalium 4 mmol/l).

Dennhardt und Haberich führten Perfusionsexperimente an Rattendärmen durch. Dabei schalteten sie durch Unterbindung des Pankreasganges die exogene Pankreassekretion aus. Nach intraluminaler Verabreichung von Kallikrein machten sie folgende Beobachtungen:
- eine Steigerung der Wasserabsorption im Dickdarm
- eine vermehrte Absorption von Natrium und Chlorid in Abhängigkeit der zugeführten Dosis an Kallikrein
- eine Hemmung der Wasser- und Elektrolytaufnahme bei den gesunden Tieren der Kontrollgruppe

Betrachte ich die von mir ermittelten Tendenzen des Verhaltens von Natrium und Kalium (Zunahme der Kaliumkonzentration im Serum, Abnahme im Hämolysat) im Zusammenhang mit dem signifikanten Glukoseeinstrom in die Erythrozyten und dem gleichzeitigen Abfall der ATP-Konzentration derselben, lässt sich eine Übereinstimmung mit Untersuchungen von Gross, Riecker, Jahrsdörfer, Caldwell und Gardos erkennen. Sie diskutierten ein Glukose - Kalium - Gegenstromprinzip im Sinne Lefevres mit einem Verbrauch an ATP.

Im Verhalten des Säurebasenhaushaltes war kein Einfluß des Kallikreins zu erkennen. Den signifikanten Anstieg des aktuellen pH bei der Zwischenkontrolle (t_7), der sich bei der Bestimmung der Endwerte (t_{14}) jedoch wieder deutlich verringert hatte, möchte ich dem entsprechendem Verhalten des Laktats anlasten.

2. Verhalten von Hämatokrit, Erythrozytenzahl, Hb, Hb_E und MCV

Bei der Kontrolle des Blutbildes zeigten sich eine signifikante Abnahme der Erythrozytenzahl ($p = 0{,}026$), ein Abfall des Hämatokrits, sowie signifikante Erniedrigungen der Hämoglobinkonzentration ($p = 0{,}012$) und des mittleren Hämoglobingehaltes der Erythrozyten ($p = 0{,}025$). Das mittlere Zellvolumen (MCV) nahm geringfügig zu. Hb_E und MCV sind aus Erythrozytenzahl und Hämoglobin bzw. aus Hämatokrit und Erythrozythenzahl berechnete Grössen. Der Hämatokrit gibt den Volumenanteil der roten Blutkörperchen in Prozent des Vollbluts an. Die Verringerung von Hämoglobingehalt und Erythrozytenzahl weisen in dieser Konstellation auf eine Verdünnung des Blutes durch den Einstrom interstitieller Flüssigkeit hin. Berücksichtigt man die für die Bestimmungen entnommenen Blutmengen (insgesamt ca. 155 ml), scheint es nicht gerechtfertigt, dies nur dem Kallikrein zuzuschreiben.
Stellt man in diesem Zusammenhang jedoch die durch Kallikrein bekanntlich gesteigerte Durchblutung der Muskulatur, die erzielte Vasodilatation, den beschleunigten Blutstrom und die verbesserte Mikrozirkulation in Rechnung, wird es durchaus wahrscheinlich, daß das Kallikrein für den beobachteten Verdünnungseffekt verantwortlich ist.
Auch die von Dennhardt und Haberich beschriebene Steigerung der Nettowasserabsorption durch die Mukosazellen des Rattendickdarms nach Kallikreingabe fügt sich in dieses Konzept ein.

3. Verhalten der Glukose, des Laktats, des Pyruvats und des ATP

Einen zentralen Aspekt dieser Arbeit stellen die Auswirkungen des Kallikreins auf den Stoffwechsel dar. Als Modell für die Interaktionen von Zellen und Extrazellularraum bediente ich mich des Modells der Erythrozyten; denn diese Methode hat sich bereits in zahlreichen Studien bewährt.

Den wichtigsten Energieträger für die Erythrozyten stellt die Glukose dar. Sie wird in der Glykolyse über die Zwischenstation des Pyruvats zum Laktat abgebaut. Der Glukoseabbau über den oxydativen Pentoseweg spielt in den roten Blutzellen nur eine untergeordnete Rolle; denn die Konzentration des NADP - für die Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase-Reaktion erforderlich - ist nur gering. Hierin unterscheidet sich der Stoffwechsel der Erythrozyten von den meisten Zellen der höheren Organismen.
Bei diesen kommt der Glykolyse vor allem die Bedeutung eines zusätzlichen Stoffwechselwegs zu, auf den unter Bedingungen des Sauerstoffmangels für kurze Zeit zurückgegriffen wird. Dies scheint vernünftig, bedenkt man, daß in der Glykolyse bei der Umwandlung von einem Mol Glukose nur zwei Mol ATP entstehen, während bei der Veratmung der Glukose 38 Mol ATP gebildet werden.

Der Weg bis zur Pyruvatbildung ist identisch, unabhängig davon, ob die Glukose veratmet oder glykolisiert wird. Auf der Stufe des Pyruvats entscheidet sich, ob der Weg der Hydrierung (Glykolyse) oder derjenige der Dehydrierung (oxydativer Abbau) eingeschlagen wird: liegt genügend $NADH_2$ vor, was unter anaeroben Verhältnissen zutrifft, tritt eine Hydrierung des Pyruvats zu Laktat ein, überwiegt NAD unter aeroben Bedingungen, tritt der oxydative Abbau des Pyruvats zum Acetyl-CoA ein. Eine hohe aerobe Glykolyse weisen vor allem Krebszellen, aber auch reife rote Blutzellen auf. Bei den roten Blutkörperchen ist kaum ein Unterschied in der Milchsäurebildung zwischen aeroben und anaeroben Bedingungen festzustellen, da ihr Atmungssystem verkümmert ist.

Innerhalb von Enzymketten lassen sich zwei Klassen von Reaktionen unterscheiden, nämlich Reaktionen im Ungleichgewicht, die nahezu irreversibel sind, und Gleichgewichtsreaktionen. Bei der Glykolyse der roten Blutzellen

befinden sich drei Reaktionsschritte, und zwar die Hexokinase-, die Phosphofruktokinase- und die Pyruvatkinasereaktion im thermodynamischen Ungleichgewicht. Für die Regulation des Stoffumsatzes sowie für die Konzentrationen der Zwischenprodukte sind vor allem die Reaktionen im Ungleichgewicht von Bedeutung. Sie kontrollieren den gesamten Durchsatz durch eine Stoffwechselkette.

Eine Modifizierung der Kontrolle der Substratumsetzung stellt die Rückkopplung innerhalb der Enzymkette dar. Im einfachsten Fall übt das Produkt des ersten irreversiblen Schrittes eine Hemmwirkung aus. Dies liegt bei der Hemmung der Hexokinase durch Glukose-6-Phosphat vor. In einem solchen Fall übt auch das nachfolgende irreversible Enzym, d.h. die Phosphofruktokinase, einen Einfluß auf den Stoffluß durch die Enzymkette aus. Auf diese Weise entsteht eine Mehrpunktkontrolle, bei der die Hexokinase und die Phosphofruktokinase als ein gemeinsames Kontrollsystem wirken. Derartige Verhältnisse liegen bei der Glykolyse der Erythrozyten vor.

Mein Ziel war, etwaige Einflüsse des Kallikreins auf den durchschnittlichen Gehalt der Erythrozyten an Glukose, Pyruvat und ATP aufzuzeigen. Die Voraussetzung dafür schaffte die Bestimmung der hierzu benötigten Parameter in Serum und Vollblut. Unter Zugrundelegung des Hämatokrits ließ sich die jeweilige Konzentration in den Erythrozyten berechnen.

Zum besseren Verständnis der folgenden Ausführungen seien die ermittelten Verhaltensänderungen in einer kurzen Übersicht zusammengestellt. Verglichen wurden jeweils der Ausgangswert mit dem Kontrollwert nach siebentägiger Padutingabe und dem Endwert nach vierzehntägiger Medikation.

Glukose	t_0	t_7	t_{14}
Serum	↘	→	
Blut	←	⇑	
/Erythr.	↑	⇑	

ATP	t_0	t_{14}
Serum	→	
Blut	↓	
/Erythr.	↓	

Pyruvat	t_0	t_7	t_{14}
Serum	→	↘	
Blut	→	⇑	
/Erythr.	↘	⇑	

es bedeuten

→	geringer Anstieg	↘	geringer Abfall
↑	Tendenz zum Anstieg	↓	Tendenz zum Abfall
↑	signifikanter Anstieg	↓	signifikanter Abfall

Wir sahen zunächst einen leichten Abfall der Glukosekonzentration im Serum, den ein ebenfalls nicht markanter Anstieg folgte. Für sich alleine hat dies auch deshalb keine Bedeutung, weil alle Werte nicht aus Nüchternblut gewonnen wurden.
Dies ändert sich jedoch, stellen wir den Serumwerten die im Vollblut gemessenen Glukosekonzentrationen gegenüber. Hier konnte ich einen statistisch stark signifikanten Anstieg sichern.
Berechnen wir mit Hilfe des Hämatokrits den Gehalt der Glukose in den Erythrozyten, erhalten wir ein Maß für die Extraktion der Glukose aus dem Serum. Es zeigt sich ein signifikanter Anstieg von 4,1 $\pm$ 0,27 mmol/l auf 5,01 $\pm$ 0,18 mmol/l nach 14-tägiger Kallikreineinnahme.
Dies weist auf eine Erleichterung der zellulären Glukoseaufnahme bei oraler Applikation von Kallikrein hin.

1973 beschrieben Meng und Haberland für die Mukosazellen des Rattendünndarms einen positiven Einfluß auf den Transport von Glukose durch die Zellmembranen. Sie stellten dabei eine Abhängigkeit des Glukoseflusses von der Kallikreinkonzentration in Form einer glockenförmigen Dosiswirkungskurve fest. Kurven dieses Typs sehen wir häufig bei Stoffen, die an endogenen Regelmechanismen teilnehmen.
Caspary und Creutzfeldt konnten bei in vitro Versuchen keinen Einfluß auf den Tranport von Hexosen durch Kallikrein feststellen.
Dennhardt und Haberich hingegen bestimmten in Perfusionsexperimenten am Rattendarm den Hexosentransfer bei verschiedenen Kallikreinkonzentrationen im Darmlumen. Die Autoren führen die durch Kallikrein gesteigerte Aufnahme des Zuckers auf eine Stoffwechselstimulation in der Mukose zurück.

Die von mir gefundenen signifikanten Erhöhungen der Konzentrationen an Pyruvat in Vollblut und Erythrozyten kann man auch in dieser Weise interpretieren. Die signifikante Aktivitätssteigerung des plasmatischen Gerinnungsfaktors V, sowie die Aktivitätszunahmen der Faktoren II und X lassen eine Stoffwechselaktivierung auch der Leberzellen vermuten.

Moriwaki und Mitarbeiter wiesen eine durch intraluminal verabreichte Kallikreinspuren (10^{-3}KE) verursachte Steigerung des Methionin- und D-Glukosetransports vom Jejunum in die obere Mesenterialvene und eine erhöhte Absorption von Valin nach.

Die positive Beeinflussung des Zuckertransports durch Zellmembranen wurde jedoch nicht nur für die Mukosazellen des Rattendünndarms beschrieben. Eisen und Noronha-Dutra bestätigten dies bei Makrophagen, Schachtschabel und Rohen bei Fibroplasten, sowie Leidl und Mitarbeiter bei Spermatozoen.

Die Forderung nach einer Insulin-ähnlichen Wirkung bei parenteraler Gabe von Bradykinin erheben Dietze, Wicklmayr und Mayer. Sie fanden heraus, daß die bekannte Stiegerung der muskulären Glukoseaufnahme während Muskelarbeit durch Kinine hervorgerufen wird. Auch beim ruhenden Unterarm wiesen sie eine gesteigerte Glukoseextraktion unter einer Bradykininfusion nach. In weiteren Untersuchungen erbrachten sie den Beweis, daß außer den Kininen auch die Prostaglandine bei der Glukoseaufnahme in den Muskel eine Rolle spielen. In ihrem Modell wird die muskuläre Glukoseaufnahme wie folgt geregelt: das Insulin sorgt für die Basisversorgung der Zelle mit Glukose. In Ausnahmesituationen, wie z.B. im hypoxämischen Stadium oder bei körperlicher Anstrengung ergänzen die Kinine den plötzlich angestiegenen Glukosebedarf der Muskelzellen, indem sie den Glukosetransport durch die Zellmembranen beschleunigen. Zum anderen erhöhen die Kinine durch Versorgung der Muskelzellen mit Sauerstoff und Glukose die Kapillardurchblutung. Für eine Stimulierung der Glukoseaufnahme sind jedoch niedrige Insulinkonzentrationen Voraussetzung.

In diesem Zusammenhang scheint es von Bedeutung, daß das Insulin das menschliche Angiotensin I Converting Enzyme blockiert. Dieses Enzym ist identisch mit der Kininase II.

Dies erklärt wohl auch folgende Beobachtungen von Frey, Kraut und Werle im Jahre 1932: die Blutzuckersenkung durch Kallikrein beim pankreatektomierten Hund sowie beim Diabetiker wurde allmählich geringer, erforderte dann höhere Kallikreindosen; schließlich wurde der Blutzuckerspiegel nicht mehr beeinflußt. Nach zwischenzeitiger Insulingabe war der Kallikreineffekt jedoch wieder voll auslösbar.

Weitere Indizien liefern Rohen und Haberland: sie wiesen in der Darmschleimhaut verstorbener Diabetiker bis zu vierfach höhere Kallikreinkonzentrationen als bei Normalpersonen nach. Dies wurde von Werle in analogen Versuchen bei lebenden Diabetikern an Hand der Kallikreinausscheidungen von Darm und Niere bestätigt.

Rohen schließlich erzeugte durch partielle Pankreatektomie bei Ratten einen experimentellen "Diabetes". Nach Behandlungsbeginn (500 KE/kg Körpergewicht intraperitoneal jeden zweiten Tag) normalisierte sich der erhöhte Blutglukosespiegel relativ rasch und blieb auch während des weiteren Versuchablaufs im Normbereich. Eine Verdickung der subendothelialen Basalmembranen - typisches morphologisches Zeichen der Blutzuckererkrankung - trat nicht auf.

Das Kallikrein-Kinin-System nimmt also neben dem Insulin eine regelnde Funktion im Glukosestoffwechsel wahr. Alle oben geschilderten Beobachtungen weisen darauf hin.

Die Ergebnisse meiner Arbeit machen eine Wirkung des Kallikreins auf den Blutzuckerspiegel und die Glukoseaufnahme in die Zellen nun auch nach oraler Einnahme bei einer stoffwechselgesunden männlichen Population wahrscheinlich.

Wenn Frey, Kraut und Werle bei Stoffwechselgesunden keine Beeinflussung des Blutzuckers feststellen konnten, lag dies wohl an den damals sehr viel niedriger dosierten Kallikreingaben.

Neben meine ermittelten Werte möchte ich nun manch persönliche Eindrücke einiger meiner Versuchspersonen stellen: sie gaben an, sich körperlich wohler, leistungsfähiger, wacher zu fühlen.
Als Indiz für Stoffwechselstimulation und Leistungssteigerung sehe ich dabei das Verhalten der Stoffwechselparameter Laktat, Pyruvat und ATP an. Ich fand nach 7-tägiger Medikation einen signifikanten Abfall des Blutlaktats. Dies wird durch Untersuchungen von Gross und Burchardt bestätigt. Auch Philippi beschreibt verringerte Laktatspiegel unter Kallikrein.

Diese Verringerung des Laktats möchte ich der bereits beschriebenen besseren Nähr- und Sauerstoffversorgung der Gewebe sowie der bekannten Beschleunigung des Blutflusses durch Kallikrein zuschreiben.

Nach 14 Tagen Kallikreineinnahme war der Laktatspiegel fast wieder bis zum Ausgangswert zurückgekehrt.
Siegenthaler gibt für Laktat einen durchschnittlichen Normalwert im Blut von 1 mmol/l an, Thorn einen Bereich von 1,08 - 1,62 mmol/l, Laudahn einen Bereich von 0,97 - 1,73 mmol/l. Meine Mittelwerte betrugen 1,22 $\pm$ 0,07 mmol/l (t_0), 0,928 $\pm$ 0,06 mmol/l (t_7) bzw. 1,17 $\pm$ 0,06 mmol/l (t_{14}). Für den Laktat-Pyruvat-Quotienten gibt Siegenthaler einen Wert von 10 - 12 an. Ich ermittelte Quotienten von 15,63 (t_0), 11,53 (t_7) und 12,44 (t_{14}).

Es fällt ein annähernd gegensinniges Verhalten von Laktat und Pyruvat im Blut auf. Fällt das Laktat nach 7 Tagen signifikant ab, so zeigt das Pyruvat zu diesem Zeitpunkt einen geringen Anstieg ohne Signifikanz. Bezogen auf den Pyruvatgehalt der Erythrozyten findet sich allerdings eine Abnahme.

Ungeklärt bleibt ein Widerspruch zu den Angaben von Gross und Burchardt: sie beschreiben unter gut vergleichbaren Voraussetzungen einen signifikanten Abfall der Pyruvatkonzentration im Blut.

Betrachten wir meine Ergebnisse nach 14-tägiger Kallikreineinnahme : das Laktat im Blut hat seinen Ausgangswert nahezu wieder erreicht; die Pyruvatkonzentrationen in Vollblut und Erythrozyten zeigen einen signifikanten Anstieg. Für die Konzentrationsänderung in den roten Blutzellen von t_0 nach t_{14} ergibt sich im T-Test gar der Wert p = 0,007.
Hinsichtlich des Gehaltes an Glukose in Vollblut und Erythrozyten stellt sich jeweils ein signifikanter Anstieg dar. Bei der Zwischenuntersuchung war dies noch nicht zu beobachten.
Das ATP weist im Blut einen leichten, in den Erythrozyten einen deutlichen Abfall auf.
Wie fügt sich all das zu einem Bild zusammen? Die roten Blutkörperchen haben vermehrt Glukose aufgenommen. Dies scheint zum einen auf einer vermehrten Bereitstellung von Glukose durch den Organismus, zum anderen auf einer erleichterten Aufnahme in die Zelle zu beruhen. Gleichzeitig ist das intrazelluläre Pyruvat stark angestiegen. Dies deutet auf einen erhöhten Glukoseumsatz der Erythrozyten hin.

In diesem Fall erwarten wir auch eine Zunahme der ATP-Konzentration der Erythrozyten. Wir finden aber eine deutliche Abnahme. Wie erklärt sich diese Diskrepanz? Muß vielleicht die rote Blutzelle diese Energie für die vermehrte Aufnahme der Glukose durch die Zellmembran aufbringen?

Die von mir aufgrund der Stoffwechselaktivierung vermutete gesteigerte Bereitstellung von Glukose durch den Organismus läßt sich durch Untersuchungen von Wiśniewski und Mackiewitz erhärten: bei der gleichzeitigen Gabe von Insulin und Kallikrein oder der Infusion von Bradykinin blieben bei Ratten hypoglykämische Krampfanfälle aus, während sie in einer reinen Insulingruppe kurzzeitig auftraten. Die mit Insulin und zusätzlich mit dem Kininogenasehemmer Iniprol (Trasylol^{R}) behandelten Tiere kamen durch die Krampfanfälle meist zu Tode. Bemerkenswert ist der Anstieg der Kininogenaseaktivität des Hirngewebes der nur mit Insulin behandelten Tiergruppe auf das Dreifache 30 Minuten nach Applikation des Hormons.

Obige Ausführungen deuten auf eine wichtige Stellung der Kallikreine bei der Regulation der Stoffwechselfunktionen. Die endgültige Klärung dieser mannigfachen Wechselbeziehungen wird sicher noch viel Zeit und Mühen kosten.

Ein paar, mir als Ansatz für weitere Arbeiten wichtig erscheinende Punkte, möchte ich noch festhalten:

1. Die Wirkungen des Kallikreins beruhen auf einer glockenförmigen Dosis-wirkungskurve. Dies bedeutet: exogen zugeführtes Kallikrein kann nur dann therapeutisch wirksam sein, wenn die Konzentrationen von zugeführten und körpereigenen Kallikreinen sich bezüglich dieser Kurve sinnvoll ergänzen.
2. Insulin ist ein wichtiger Hemmstoff für die Kininase II. Deshalb kann Kallikrein vermutlich nur bei Aufrechterhaltung eines Mindestspiegels an Insulin wirksam sein.
3. Das Kallikrein verbessert die Extraktion der Glukose aus dem Blut.
4. Kallikrein wird auch nach oraler Gabe wirksam.

4. Einfluß auf die Blutgerinnung

Plasmakallikrein und HMW-Kininogen sind heute in erster Linie als Gerinnungsfaktoren anzusehen (Weiss et al. 1974, Donaldson et al. 1976, Kato et al. 1977). Der biologische Partner des Plasmakallikreins ist neben dem hochmolekularen oder HMW-Kininogen der Hagemanfaktor (Faktor XII). Er wird durch Plasmakallikrein in Gegenwart des HMW-Kininogens (als Kofaktor) enzymatisch aktiviert.
Faktor XII aktiviert Präkallikrein zu Kallikrein. Die Kininogenase wiederum aktiviert in großem Umfang den Hagemanfaktor und setzt aus Kininogenen Kinine frei. Sie spaltet gleichzeitig aus denselben Molekülen Polypeptide mit einem Molekulargewicht von ca. 5000 und zahlreichen Histidinresten ab. Diese sogenannten "Histidin rich polypeptides" sind starke Inhibitoren der Hageman-Faktor-Aktivität. Faktor XII ist nicht nur am Starterprozeß für das Kallikrein-Kinin-System wesentlich beteiligt, er ist auch das auslösende Enzym für das Gerinnungs- und das Lysissystem.

Bei Padutin^{R} 100 handelt es sich um Organkallikrein, das aus dem niedermolekularen oder LMW-Kininogen Kinine abspaltet.
Wie lassen sich in Berücksichtigung dessen meine Ergebnisse interpretieren? Betrachten wir sie noch einmal in einer kurzen Übersicht.

Quick	PTZ	PTT	FI	FII	FV	FX	FXII	TEG	PAT III	Euglob.lyse
↘	↘	↓	⇑	↓	⇓	↓	⇑	→	→	→

Den verkürzten Gerinnungszeiten von Quick, PTZ, PTT und der Faktoren II, V und X entsprechen eine signifikante Aktivitätssteigerung von Faktor V und eine deutliche Aktivitätszunahme von Faktor X.
Dies könnte in einer erhöhten Stoffwechselleistung der Leberzellen begründet sein.
Der von Rixon und Whitfield beschriebene proliferationsfördernde Effekt und die von Rohen und Peterhoff festgestellte gesteigerte mitotische Aktivität in Darmepithelzellen durch Kallikrein ist in diesem Zusammenhang zu erwähnen.
Lindner und Schütte wiesen eine mitotische Wirkung des Kallikreins an Leber, Niere, Herz und Gefäßen quantitativ nach.

Rabes zeigt einen positiven Einfluß des Kallikreins auf das für die Proliferationsreaktion der Leber nach Teilresektion verantwortliche Netzwerk von Wechselbeziehungen.

Bei einer vermehrten Produktion an Gerinnungsfaktoren durch die Stoffwechselleistungen der Leber müßten wir auch eine Zunahme der Fibrinogenkonzentration sehen.
Ich ermittelte jedoch eine signifikante Verminderung des Fibrinogens im Plasma. Es stellt sich die Frage, ob eine fibrinolytische Wirkung der Serinprotease Kallikrein einer Fibrinogenmehrproduktion entgegensteht und ein Abfall der Fibrinogenkonzentration resultiert. Dies zu klären erfordert sicherlich weitergehende Untersuchungen.

Wie erklärt sich die signifikante Aktivitätsminderung des Hagemanfaktors, die Denk, Eisen und Blümel in in vitro Versuchen allerdings nicht fanden?

Nach einer intravenösen Gabe von Plasmakallikrein hätte ich zunächst eine Aktivierung des Faktors XII, dann jedoch dessen Hemmung durch die aus den HMW Kininogenmolekülen abgespaltenen "Histidin rich polypeptides" erwarten müssen.
Ob die gefundene Abnahme der Aktivität des Faktors XII auf einem ähnlichen Mechanismus beruht, darf bestenfalls vermutet werden.
Gegen den Pathomechanismus einer Verbrauchskoagulopathie sprechen hierbei das Verhalten der Faktoren II, V und X und der Thrombozytenzahl. Diese ist nur geringfügig vermindert.

In der angewandten Dosierung konnte ich keinen Einfluß des Kallikreins auf die Thrombelastographie, die Euglobulinlysezeit und die Plättchenaggregation III nach Breddin feststellen.

V. Zusammenfassung

An zwanzig stoffwechselgesunden jungen Männern wurden Wirkungen des Kallikreins untersucht. Die Probanden erhielten täglich sechs Tabletten Padutin 100. Dies entspricht einer Dosis von 600 Kallikreineinheiten. Nach jeweils sieben und vierzehn Tagen wurden die Konzentrationen von Glukose, Pyruvat, Laktat, Adenosintriphosphat und der Elektrolyte Natrium und Kalium im Vollblut und im Serum bestimmt. Ferner wurden das rote Blutbild und der Gerinnungsstatus kontrolliert. Der Gerinnungsstatus umfasste die Thrombelastographie, den Plättchenaggregationstest III, die Euglobulinlysezeit, den Einphasentest nach Quick, die partielle Thromboplastinzeit, die Plasmathrombinzeit und die Analyse der plasmatischen Gerinnungsfaktoren I, II, V, X und XII.

Nach vierzehntägiger Gabe von Kallikrein zeigten sich signifikante Anstiege der Blutgehalte von Glukose und Pyruvat. Die dazugehörenden Serumkonzentrationen änderten sich nur geringfügig. Unter Zuhilfenahme des jeweiligen Hämatokrits errechnete ich daher einen signifikanten Einstrom von Glukose und Pyruvat in die Erythrozyten.
Der Laktatgehalt des Blutes war nach sieben Tagen signifikant vermindert, das aktuelle pH dementsprechend erhöht. Nach vierzehn Tagen waren in dieser Hinsicht keine statistischen Signifikanzen mehr nachweisbar.
Der Säurebasenhaushalt und das Verhalten von Natrium und Kalium ließen keine weiteren Wirkungen des zugeführten Kallikreins erkennen. Bei der Kontrolle des Blutbildes fanden sich ein Abfall des Hämatokrits, verbunden mit einer signifikanten Abnahme der Erythrozytenzahl, sowie eine signifikante Verringerung der Hämoglobinkonzentration und der mittleren Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten. Das mittlere Zellvolumen blieb hierbei unverändert.
Der Gerinnungsstatus zeigte keine Änderungen des Thrombelastogramms, der Plättchenaggregation und der Euglobulinlyse. Es ergaben sich jedoch eine signifikante Aktivitätssteigerung des Faktors V, ein leichtes Ansteigen der Aktivitäten der Faktoren II und X. Die Fibrinogenkonzentration und die Aktivität des Hagemanfaktors waren signifikant vermindert. Der Einphasentest nach Quick, die Plasmathrombinzeit und die partielle Thromboplastinzeit zeigten sich geringfügig, jedoch nicht signifikant verkürzt.

Die von mir ermittelten Werte stellte ich Ergebnissen anderer Autoren gegenüber. Unter Berücksichtigung einschlägiger Literatur gelange ich zu folgender Ansicht:

Bei der Regulation des Blutzuckerspiegels scheint ein Zusammenwirken von Kallikrein und Insulin gesichert. Dabei verbessert das Kallikrein die Versorgung der Gewebe mit Nährstoffen: initial durch eine erhöhte Durchblutung und Sauerstoffversorgung, dann durch eine leichtere Glukoseaufnahme in die Zellen. Für die Wirkungen des Kallikreins ist ein gewisser Mindestspiegel an Insulin im Plasma nötig, da das Insulin einen wichtigen Hemmstoff der Kininase II darstellt. Beim stoffwechselgesunden Menschen führt das oral zugeführte Kallikrein wahrscheinlich zu einer Stoffwechselstimulation. Dies zeigte sich bei meinen Versuchen in einer erhöhten Glukoseextraktion der Erythrozyten, in einer vermehrten Bereitstellung von Glukose und Pyruvat durch den Organismus und in einer gesteigerten Bildung der Gerinnungsfaktoren II, V und X.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

Astrup, P.
A new Approach to Acid-Base Metabolism
Clin. Chem. 7, I, 1 - 15 (1961)

Barthels, M., Poliwoda, H.
Gerinnungsanalysen
Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1975

Bauer, H.
Die BTS-Konzentration im Blut von Multiplen Sklerosen und Kontrollfällen. Vergleichende Studien zur Methodik und klinischen Bedeuturg der BTS-Bestimmung im Blut.
Biochem. Z. 327, 491 - 501 (1956)

Bittmann, S., Mangold, I., Thäter, G., Schütte, B., Lindner, J.
Further Data Regarding the Influence of Kallikrein on DNA-Synthesis and Cell Proliferation
Kininogenases 4, 137 - 160
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Breddin , K., Grun, H., Krzywanek, H.J., Schremmer, W.P.
Zur Messung der "spontanen" Thrombozytenaggregation
Plättchenaggregationstest III. Methodik.
Klin. Wschr. 53, 81 - 89 (1975)

Caldwell, P.C., Hodgkin, A.L., Keynes, R.D., Shaw, T.I.
The Effect of Injecting "Energyrich" Phosphate Compounds on the active Transport of Ions in the Giant Axons of Loligo
J. Physiol. 152, 561 - 590 (1960)

Caspary, W.F., Creutzfeldt, W.
The Influence of Kallikrein on Absorption of Sugars and Acids in Rat Small Intestine in Vitro
in Ininogenases 1, 67 - 73
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Clauss, A.
Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens
Acta haemat. 17, 237 - 246 (1957)

Czok, R., Lamprecht, W.
Methoden der enzymatischen Analyse
Pyruvat, Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat - 2 - Phosphat
in H.U. Bergmayer, 2. Auflage, Bd. II, Verlag Chemie, Weinheim, 1407 - 1411

Denk, S., Eisen, V., Blümel, G.
Effect of Organic Kallikrein and Blood Coagulation, Complement and Esterolytic Activity of Plasma
in Kininogenases 3, 41 - 53
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Dennemann, H.
Enzymatische Bestimmung von Adenosintriphosphat im Vollblut
Z. ges. exp. Med. 134, 335 - 340 (1961)

Dennhardt, R., Haberich, F.J.
Effect of Kallikrein on the Absorption of Water, Elextrolytes, and Hexoses in the Intestine of Rats
in Kininogenases 1, 81 - 88
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Dietze G., Wicklmayr, M., Mayer, L.
Evidence for a Participation of the Kallikrein - Kinin System in the Physiological Regulation of Muskular Substrate Metabolism during Muskular Work and Hypoxia
in Kininogenases 4, 291 - 298
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Dietze, G., Wicklmayr, M.
Effekt von Bradykinin auf die Glukoseaufnahme durch die Muskulatur beim Menschen
Klin. Wschr. 55, 357 - 358 (1977)

Die Bedeutung der Milchsäurebestimmung für Forschung und Klinische Medizin
Therapie des Monats 2, 54 - 55 (1957)

Donaldson, V.H., Glueck, M.A., Miller, M.A., Movat, H.Z., Habal, F.
Kininogen deficiency in Fitzferald trait:
role of the high moleculat weight kininogen in clotting and fibrinolysis
J. Lab. Clin. Med. 87, 327 - 337 (1976)

Eisen, V., Noronha-Dutra, A.
Effects of Kallikrein and Bradykinin on Uptake and Release of Substances
by Peritoneal Macrophages
in Kininogenasa 4, 309 - 319
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Erwin. G., Erdös, M.D.
Conversion of Angiotensin I to Angiotensin II
The American Journal of Medicine 60, 749 - 759 (1976)

Förster, H., Mehnert, H.
Kohlenhydratstoffwechsel in
Siegenthaler: Klin. Pathophysiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 4. Auflage, 34 - 100 (1979)

Frey, E.K., Kraut, H., Werle, E.
Über die blutzuckersenkende Wirkung des Kallikreins
(Padutins). Klin. Wschr. 11, 846 - 849 (1932)

Frey, E.K., Kraut, H., Werle, E.
Kallikrein Padutin
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1950

Frey, E.K., Kraut, H., Werle, E.
Das Kallikrein - Kinin - System und seine Inhibitoren
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1968)

Fritz, H.,
Biochemische Aspekte einer Kallikreinanwendung
Fortschritte der Andrologie 6, 6 - 15 (1978) Grosse Verlag

Gardos, G.
Akkumulation der Kaliumionen durch menschliche Blutkörperchen
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 6, 191 - 199 (1954)

Glynn, I.M.
Ion Fluxes in Red Cells
J. Physiol. 134, 278 - 309

Günther, B., Wicklmayr, M., Dietze, G., Böttiger, L., Geiger, R., Schultis, K.
Beeinflussung der postoperativ gestörten Glucosetoleranz durch Bradykinin
Chirurg, 49, 244 - 245 (1978)

Gross, W., Burchardt, F.
Stoffwechselveränderungen unter Einwirkung von Kallikrein vor und nach ergometrischer Belastung
Symposium über das Kallikrein-Kininsystem 8. Juni 1978 in Berlin, sowie persönliche Mitteilungen

Gross, W.
Das Verhalten der Glucose in Serum und Erythrozyten nach Gabe von Tolbutamid
Ber. Physik.-Med.Ges. Würzburg, Neue Folge 71, 154 - 162 (1962 - 1964)

Gross, W.
Der Kalium- und Glukose-Austausch zwischen Erythrozyten und Plasma
Münch. med. Wschr. 103. Jahrg. 50, 2528 - 2529 (1960)

Haberland, G.L., Rohen, J.W. (Eds)
Kininogenases 1
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New-York 1973

Haberland, G., Rohen, J.W., Schirren, C., Huber, P., (Eds)
Kininogenases 2
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New-York 1975

Haberland, G., Rohen, J.W., Blümel, G., Huber, P. (Eds)
Kininogenases 3
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart-New-York 1975

Haberland, G., Rohen, J.W., Suzuki, T., (Eds)
Kininogenases 4
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Haberland, G.L.
Comments
in Kininogenases 4, 365 - 368
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York

Haberland, G.L.
Esteroproteinasen in der Pathophysiologie des Hochdrucks
Med. Welt 28, 369 - 373 (1977)

Haberland, G.L.
Pharmakologische Grundlagen der Kallikreinanwendung in der Andrologie
Fortschritte der Andrologie 6, 1 - 5 (1978) Grosse Verlag

Harris, I.E.
The Linkage og Sodium and Potassium active Transport in human Erythrocytes
Symp. Soc. Exper. Biol. 8, 228 - 239 (1954)

Harris, I.E.
The Influence of the Metabolism of Human Erythrcytes on their
Potassium Content
J. biol. Chem. 141, 379 - 595 (1941)

Hartert, H.
Die Thrombelastographie in der Differentialdiagnose der hämorrhagischen
Diathesen
Schweiz. Med. Wschr. 14, 318 - 322 (1949)

Hartert, H.
Blutgerinnungsstudien mit der Thrombelastographie, einem neuen Unter-
suchungsverfahren.
Klin. Wschr. 26, Heft 37/37, 577 - 583 (1948)

Haubitz, I.
Zeichenprogramme zur medizinischen Statistik
Persönliche Anweisungen, Würzburg 1979

Hohorst, H.J.
"Methoden der enzymatischen Analyse"
in H.U. Bergmayer, 2. Auflage, Bd. II, Verlag Chemie, Weinheim, 1425 - 1429
L-(+)-Lactat; Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD

Hokin, L.E., Hokin, M.R.
Biogical Transport
Ann. Rev. Biochem. 32, 553 - 578 (1963)

Igic, R., Erdös, G.E., Yeh, H.S.I., Sovells, K., Nahajima, T.
Angiotensin I converting ecyme of Lung
Circ. Res. 31/II, 51 - 61 (1972)

Jahrsdörfer, D.
Die Wirkung von Vitamin B_{12} in Zubereitung mit Vitaminen des B - Komlexes auf das Adenylsäuresystem und den Elektrolythaushalt.
Aus der Med. Poliklinik der Universität Würzburg, Inauguraldissertation
Mai 1972

Jürgens, J., Beller, F.K.
Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse
Georg Thieme Verlag Stuttgart 1959

Kallikrein (Padutin)
Bayropharm Köln 1979

Kato, H., Han, Y.N., Iwanaga, N., Hashimoto, T., Fujii, S., Suzuki, T.
Mammalian plasma kininogens their structures and functions
in Kininogenases 4, 63 - 72
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Katori, M., Iwanaga, S., Komija, M., Han, Y.N., Suzuki, T., Oh-Ishi, S.
Structure and Possible Physiological Funktion of a Fragment ("Histidine-rich Peptide") Released from Bovine Plasma High Molecular Weight Kininogen by Plasma Kallikrein
in Kininogenases 3, 11 - 18
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Knauer, B., Brugger, G.
SPSW. Statistik Programmsystem Würzburg. Eine erweiterungsfähige Programmiersprache für statistische Zwecke.
Berichte aus dem Rechenzentrum der Universität Würzburg, August 1978

Laudahn, G.
Fermentaktivitäten und Konzentrationen von Stoffwechselzwischenprodukten im Blut bei Leber- und Herzkrankheiten
Klin. Wschr. 37, 850 - 858 (1959)

Lefevre, P.G.
The Evidence for active Transport of Monosaccharids across the red Cell Membrane
Symp. soc. exp. Biol. 8, 118 - 135 (1954)

Leidl, W., Prinzen, R., Schill, W.-B., Fritz, H.
The Effect of Kallikrein on Motility and Metabolism of Spermatozoa in vitro
in Kininogenases 2, 33 - 40
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Lindner, J., Schütte, B., Johannes, G.
Contribution to the Effect of Kallikrein on the Turnover of Connective-Tissue Cells, Especially in Regeneration and Wound Healing
in Kininogenases 3, 195 - 204
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Löbbecke, E.-A.
Effect of Kallikrein on the Proliferation of Various Cell Systems
in Kininogenases 1, 161 - 169
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Mathiessen, P.F., Rohen, J.W.
^{3}H-Thymidine-Incorporation in the Testis of the Albino Rat after Ligation of the Pancreatic Duct
in Kininogenases 2, 75 - 83
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Mathiessen, P.F.
The Effect of Kallikrein on ^{3}H-Thymidine Incorporation into Various Tissues of the Albino Rat with an Without Ligation of the Pancreatic Duct
in Kininogenases 3, 81 - 93
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Meng, K., Haberland, G.L.
Influence of Kallikrein on Glucose Transport in the Isolated Rat Intestine
in Kininogenases 1, 75 - 80
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Moriwaki, C., Moriya, H., Yamaguchi, Y., Kizuki, K., Fujimori, H.
Intestinal Absorption of Pancratic Kallikrein and Some Aspects of Its Physiological Role
in Kininogenases 1, 57 - 66
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Moriwaki, C., Fujimori, H.
Further Oberservations on the Influence of the Kallikrein-Kinin-System on the Intestinal Absorption
in Kininogenases 3, 57 - 62
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Moriwaki, C., Fujimori, H., Toyono, Y.
Intestinal Kallikrein and the Influence of Kinin on the Intestimal Transport
in Kininogenases 4, 283 - 290
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Ohara, I.
The Effect of Kallikrein on Body Fluid Circulation
in Kininogenases 4, 321 - 331

Perlick, E., Bergmann, A.
Gerinnungslaboratorium in Klinik und Praxis
VEB G. Thieme Leipzig (1971)

Philippi, H.
Zitiert nach: Praxiskurier 29, 33, Vortrag vom Symposium über das Kallikrein-Kinin-System 8. Juni 1979 in Berlin

Rabes, H.
Influence of Kallikrein on Proliferation of Liver Cells in Vitro and in Vitro
in Kininogenases 3, 137 - 146
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Rabes, H.M.
Proliferation Kinetics of Hepatocytes in Regeneratin Rat Liver after Kallikrein Injektion
in Kininogenases 4, 127 - 136
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Rausche, A.
PSYST 200. Ein Dateiorientiertes Programmsystem zur multivarianten Datenanalyse.
Würzburg 1979

Riecker, G.
Über den intracellulären Wasser- und Elektrolytenstoffwechsel
Klin. Wschr. Jg. 35, 23, 1158 - 1163 (1957)

Rixon, R.H. Whitfieldt, F.J.
Kallikrein, Kinin and Cell Proliferation
in Kininogenases 1, 131 - 145
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Rohen, J.W., Haberland, G.L.
Wirkungen des Kallikrein-Kinin-Systems bei Pankratektomierten Ratten
Med. Welt, 28/1, 30 - 32 (1977)

Rohen, J.W., Peterhoff, I.
Stimulation of Mitotic Activity by Kallikrein in the Gastrointestinal Tract of Rats
in Kininogenases 1, 147 - 157
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Schachtschabel, D.O., Rohen, J.W.
Influence of Kallikrein on ^{3}H-Thymidine Incorporation into the DNA and on Glyolysis of Mammalian Cell Cultures
in Kininogenases 3, 221 - 226
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Schachtschabel, D.O., Werner, J., Rohen, J.W.
Influence of Kallikrein on the Incorporation of Radioaktive Precursors into Macromolekular Constiuents of Human Diploid Fibroblasts (WI38) in Culture
in Kininogenases 4, 119 - 126
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Schmidt, F.H.
Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander
Klin. Wschr., 39, 1244 - 1247 (1961)

Schütte, B., Eggert, J., Lindner, J.
The Effect of Kallikrein on the DNA Content and Synthesis of Embryonic and Postembryonic Tissues
in Kininogenases 3, 147 - 175
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Schütte, B., Lindner J.
Additional Aspects of the Effect of Kallikrein on Cell Proliferation
in Kininogenases 4, 161 - 177
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Siggard-Andersen, O.
The pH, log pCO_2 Blood Acid-Base Nomogramm revised
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14, 598 - 604 (1962)

Siggard-Andersen, O.
Blood Acid-Base Alignment Nomogramm. Scales for pH, pCO_2, Base Excess of Whole Blood of Different Hemoglobin Concentration Plasma, Bicarbonate and Plasma Total-CO_2
Scand. J. Clin.Lab. Invest. 15, 211 - 217 (1963)

Siggard-Andersen, O., Engel, K.
A new Acid-Base Nomogramm. An improved method for the Calculation of the relevant Blood Acid-Base Data
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 177 - 186 (1960)

Siggard-Andersen, O., Jörgensen, K., Astrupp, P.
A micro Method for determination of pH, carbon dioxide tension, base excess and standard bicarbonate in dapillary blood
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 12, 172 - 176 (1960)

Soulier, J.P., Larrieu, M.I., Lasselin-Efros, S.
Measurement of thromboplastic factors and profactors in plasma
J. Lab. Clin. Med. 41, 849 - 864 (1953)

Stüttgen, G.
Kallikrein Effects: A Short Comment
in Kininogenases 2, 171 - 172
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1975

Van der Waerden, B.L.
Mathematische Statistik
Berlin - Göttingen - Heidelberg 1957

Weber, E.
Grundriß der biologischen Statistik
4. Aufl. Jena 1961

Weiss, A.S., Gallin, J.I., Kaplan, A.P.
Fletcher factor deficiency. A diminished rat of Hagemann factor activation caused by absence of prekallikrein with abnormslities of coagulation, fibrinolysis, chemotactic activity and kinin generation.
J. Clin. Invest. 53, 622 - 633 (1974)

Werle, E.
History of Kallikrein and Some Aspects of Its Chemistry and Physiology
in Kinongenases 1, 7 - 22
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1973

Wicklmayr, M., Dietze, G.
Effect of Kallikrein and Intrabrachial Arterial Bradykinin on Forearm Metabolism in Maturity Onset Diabetes
in Kininogenases 4, 299 - 308
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New-York 1977

Wisniewski, K., Mackiewicz, W.
Kinins and hypoglycemic convulsions
Pol. J., Pharmacol. Pharm. 26, 611 - 615 (1974)

Lebenslauf

Am 27.11.1952 wurde ich in Erlangen geboren. Meine Eltern sind Dr.med. Horst Rusche und seine Ehefrau Helene, geb. Meißl. Ab September 1959 besuchte ich die Volksschule, ab September 1963 das Neusprachliche Gymnasium in Bad Neustadt/Saale. Dort bestand ich im Juni 1972 die Reifeprüfung. Im Oktober desselben Jahres trat ich als Soldat auf Zeit den Wehrdienst bei der Bundeswehr an. Im September 1974 wurde ich als Leutnant im Sanitätsdienst entlassen. Zum Wintersemester 1974/75 immatrikulierte ich mich an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg für die Studienrichtung Chemie. Für das Sommersemester 1975 erhielt ich als Bewerber für den höheren öffentlichen Gesundheitsdienst des Freistaats Bayern die Zulassung für das Medizinstudium in Würzburg. Dort bestand ich im März 1977 die Ärztliche Vorprüfung, im März 1978 den ersten Teil, im März 1980 den zweiten Teil und im April 1981 den dritten Teil der Ärztlichen Prüfung.
Im Mai 1977 heiratete ich meine Frau Rutheva Rusche, geb. Memminger. Im September desselben Jahres kam unser Sohn Tim zur Welt.

Horst Rusche

Druckerei A. Staudenraus Würzburg